

**Das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren
in Serum und Harn
bei verschiedenen Nephropathien
und nach Nierentransplantation**

Josef Fall

1976

Aus der HNO - Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. H. Naumann

Das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren
in Serum und Harn bei verschiedenen Nephropathien
und nach Nierentransplantation.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Josef Fall

München

1975

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. Hochstraßer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. H. Naumann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.6.1976



Sehr herzlichen Dank möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr.
K. Hochstraßer aussprechen für die Aufgabenstellung
und Ermöglichung meiner Arbeit

Herrn Dr. med. E. Feuth danke ich herzlich für die
jederzeit freundliche und bereitwillige Unterstützung
und die vielen anregenden Vorschläge im Rahmen meiner
Arbeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Theoretischer Teil	2
I. Physiologische Aufgaben von Inhibitoren	2
II. Das aktive Zentrum von Proteasen und ihrer Inhibitoren	5
III. Wirkungsweise und Hemmtyp von Inhibitoren	6
IV. Polyvalenz und Spezifität	8
V. Molekulargewicht, Aminosäurezusammensetzung und Struktur von Inhibitoren	9
VI. Geschichte und kurze Literaturübersicht	10
C. Eigene Untersuchungen und Ergebnisse	15
I. Säurestabile Proteaseninhibitoren in Blutplasma und Harn bei Nierengesunden	15
II. Säurestabile Proteaseninhibitoren in Blutplasma und Harn bei verschiedenen Nephropathien	17
1. Ergebnisse	19
2. Diskussion der bisherigen Ergebnisse	21
III. Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren im Blutplasma und im Harn nach Nierentransplantation	31
1. Ergebnisse	33
2. Diskussion	35
IV. Material und Methoden	37
V. Zusammenfassung	38
Abbildungen	39
Tabellen	47
Literaturverzeichnis	61

A. EINLEITUNG

Stoffwechselvorgänge werden von Enzymen gesteuert, wobei die Enzyme als Katalysatoren fungieren. Verantwortlich für die katalytische Wirkung ist das "aktive Zentrum". Es besitzt eine besondere Affinität zu dem für jedes Enzym typische Substrat und entsteht durch die spezifische Faltung seiner Peptidketten, wodurch eine bestimmte Raumstruktur mit einem charakteristischen Ladungsmuster entsteht.

Enzyminhibitoren sind eine Gruppe natürlich vorkommender Proteine bei Pflanze, Tier und Mensch, die die Fähigkeit haben, die Aktivität der Enzyme einzuschränken oder ganz aufzuheben. Das geschieht meist durch ein Aneinanderlagern von Enzym und Inhibitor, wobei das aktive Zentrum des Enzyms seine katalytische Fähigkeit einbüßt.

Besonders genaue Kenntnisse besitzt man bei der Gruppe der Proteaseninhibitoren. Viele Arbeitsgruppen haben inzwischen solche Inhibitoren verschiedenster Herkunft rein dargestellt, chemisch charakterisiert, die Aminosäuresequenz aufgeklärt und den Reaktionsmechanismus der Inhibitoren mit Enzymen studiert. Dabei wurde in vitro und in vivo zum Teil ihre physiologische Funktion aufgeklärt.

Bei verschiedenen Krankheitsbildern fanden sich signifikante Abweichungen der Konzentration einzelner Inhibitoren von der Norm. Es spielt dabei wohl für die Therapie, nicht aber für die Diagnostik eine wesentliche Rolle, ob diese Veränderungen nur in Korrelation zu dem Krankheitsbild stehen oder es kausal bedingen. Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Veränderungen der Spiegel niedermolekularer säurestabiler Proteaseninhibitoren, die im menschlichen Serum und Harn vorkommen, bei verschiedenen Nephropathien und nach Nierentransplantation.

B. THEORETISCHER TEIL

I. Physiologische Aufgaben von Inhibitoren

Allgemein dürfte die Aufgabe der in der Natur vorkommenden Inhibitoren darin bestehen, biologisch wichtige Proteine sowie Gewebe mit Proteinstruktur vor körpereigenen und körperfremden Proteasen zu schützen. Kommen Inhibitoren und Enzyme nebeneinander im Gewebe vor, so dürften die Inhibitoren die katalytische Aktivität der Enzyme bestimmen und eine zeitlich und räumlich begrenzte Proteolyse ermöglichen. Die Deutung der physiologischen Aufgaben beruht jedoch weitgehend auf theoretischen Überlegungen, während exakte Beweise oft fehlen.

1. Pflanzliche Inhibitoren

In den Samen scheinen die Inhibitoren ein Eindringen von Bakterien und Pilzen zu verhindern oder vor Autolyse zu schützen (1, 2). Sie verhindern im Ruhestadium alle proteolytischen Vorgänge und dienen damit der Aufrechterhaltung einer latenten Lebensform. Während der Keimung ist dagegen kein Inhibitor mehr nachweisbar. Bei den Leguminosen, die in Symbiose mit den Knöllchenbakterien leben, können die Inhibitoren als eine Schutzeinrichtung der Pflanze vor dem Überwuchern der Bakterien und ihrer Proteasen verstanden werden.

2. Ovomucoid

Die aus Enten- und Hühnereiern isolierten Inhibitoren dürften eine Schutzwirkung für das Ei haben und ein Lagern ermöglichen. Der Inhibitorgehalt bleibt trotz Lagern und Bebrüten konstant (3).

3. Spulwurm

Bei *Ascaris lumbricoides* suum stellten Mendel und Blood fest (4), daß *Ascaris*extrakte die Aktivität tierischer

Proteasen wie Trypsin und Pepsin hemmen. Allein die Resistenz gegen Verdauungsfermente dürfte ein Überleben ohne An- und Verdauen im Darmlumen ermöglichen.

4. Lunge

Das Alpha-1-Antitrypsin verhindert die Andauung der elastischen Fasern und der Basalmembran in der Lunge durch Proteasen, die beim Zerfall von Leukozyten frei werden. Die genetisch bedingte (homo- oder heterozygot) Erniedrigung dieses Inhibitors im Serum ist für bestimmte Formen des chronisch obstruktiven Lungenemphysems verantwortlich (5, 6).

5. Bronchial- und Nasensekret

Aus Bronchial- und Nasensekret isolierten Hochstraßer und Mitarbeiter einen niedermolekularen säurestabilen Proteaseninhibitor, der für den Schutz der oberen Luftwege gegen Leukozyten- und Bakterienproteasen verantwortlich sein dürfte (7 - 9). Bei schweren chronisch atrophischen Schleimhaußerkrankungen, wie der Ozäna, und in den ersten Tagen akuter Infektionen ist das inhibierende System erschöpft (10, 11). Das Nasensekret wird proteolytisch aktiv. Inwieweit dieser Inhibitor einer durch Proteasen verursachten Bronchokonstriktion (12) entgegenwirkt, ist nicht geklärt.

6. Colostrum

Der Colostrum-Inhibitor wird von Pepsin nicht angegriffen. Nur deshalb sind die im Colostrum enthaltenen mütterlichen Immunkörper vor peptischem Abbau geschützt, können den Dünndarm passieren und resorbiert werden. Mit Colostrum gefütterte Kälber weisen einen höheren Gammaglobulinspiegel auf als normal gefütterte (13, 14).

7. Pankreas

Die enzymhaltigen Zymogengranula entleeren auf einen spezifischen Reiz hin (nervös durch Vagusreiz, humoral durch Pankreozyminausschüttung) ihren Inhalt ins Lumen

der Acini. Man stellte nun fest, daß sich Inhibitor- und Trypsinogensekretion gleichsinnig verhalten (15). Der Inhibitor hat die Aufgabe, das Pankreas vor Autokatalyse zu schützen (etwa durch vorzeitig in den Acini aktiviertes Trypsin).

8. Serum

Die Serumproteinaseninhibitoren haben die Fähigkeit in pathologisch gesteigerte proteolytische Prozesse regulierend einzugreifen. Zur Diskussion stehen dabei (16):

- a. eine Hemmung der Blutgerinnung (17, 18)
- b. eine Entzündungshemmung durch Hemmung der Kininfreisetzung (19)
- c. eventuell ein Eingriff in das Renin-System (16)

9. Anaphylaktischer Schock

Zahlreiche Untersucher nehmen an, daß proteolytische Enzyme eine Rolle bei der Pathogenese des anaphylaktischen Schocks spielen (21 - 23). Es lag nahe, den Proteinaseinhibitoren bei dieser Reaktion die Rolle des Regulationsfaktors zuzuschreiben. Gestützt wurde diese Annahme durch den Befund, daß die Trypsininhibitor-konzentration im schweren anaphylaktischen Schock plötzlich abfällt (21, 24).

10. Vesikulardrüsen und Sperma

Im weiblichen Genitaltrakt bewegen sich die Spermien schnell vorwärts, die Inhibitoren bleiben zurück. So können die lysosomalen Enzyme des Akrosoms bei der Durchdringung der Zona pellucida ihre volle Wirksamkeit entfalten. Da voll befruchtungsfähige Spermien wegen ihrer großen Penetrationsfähigkeit aber leicht von Leukozyten phagozytiert werden, liegt wohl eine Aufgabe des Inhibitors darin, die Phagozytose und allgemein das Penetrationsvermögen der Spermien für eine gewisse Zeit nach der Ejakulation zu hemmen (25).

II. Das aktive Zentrum von Proteinasen und ihrer Inhibitoren

Die meisten der von natürlichen Inhibitoren hemmbaren Proteinase haben im aktiven Zentrum einen Serinrest (Gruppe der Serinenzyme). Sie lassen sich durch Umsetzen mit Diisopropylfluorophosphat (DFP) im Molverhältnis 1 : 1 vollständig inaktivieren, da DFP diesen Serinrest phosphoryliert (26). Zusätzlich dürfte ein in der Nähe stehender Histidinrest bei der Spaltung einer Peptidbindung eine wichtige Rolle spielen. Nach seiner Photooxydation ist eine Acylierung des Serins nicht mehr möglich (16).

Alle Proteasen besitzen trotz der fast völligen Identität der Aminosäuresequenz im Bereich des aktiven Zentrums und der qualitativen Gleichwertigkeit der katalysierten Reaktion (Hydrolyse von Peptid- und Esterbindungen) eine mehr oder minder stark ausgeprägte Substratspezifität. Sie beruht auf der Struktur des aktiven Zentrums und seiner dreidimensionalen Anordnung. Die Substratspezifität läßt sich an der Aminosäuresequenz der entstandenen Spaltprodukte ablesen, die im Falle des Trypsins an der Carboxyl-Endgruppe immer eine der basischen Aminosäuren Arginin oder Lysin tragen. Das läßt darauf schließen, daß Trypsin bevorzugt Arg-X-

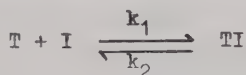
und Lys-X-Bindungen spaltet. Für die Ausbildung des Trypsin-Inhibitor-Komplexes ist wahrscheinlich eine spezielle Lysin- oder Arginin-Bindung verantwortlich (27). Chemische Veränderungen dieser Lysin- oder Arginin-Reste heben die Hemmfähigkeit dieser Inhibitoren auf (28, 29). Es lassen sich somit hinsichtlich ihres reaktiven Zentrums zwei Typen von Trypsininhibitoren unterscheiden, die sogenannten "Lysin-" und die "Arginin-Inhibitoren". Es ist Taskowsky jr. durch Abspalten des Arginins und Ersatz

durch Lysin gelungen, einen "Arginin-" in einen "Lysin-Inhibitor" umzuwandeln (30).

Die relativ hohe spezifische Aktivität einzelner polyvalenter Inhibitoren läßt sich durch die Tatsache erklären, daß sie entweder mehrere reaktive Zentren besitzen (31) oder aber in polymerer Form vorliegen (32).

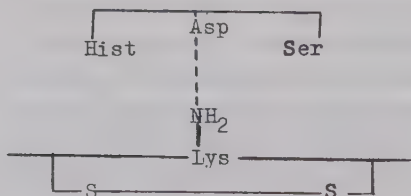
III. Wirkungsweise und Hemmtyp von Inhibitoren

Die biochemische Wirkung der Proteinasen-Inhibitoren beruht in der Regel auf einer reversiblen Bindung zwischen Inhibitor und Proteinase.



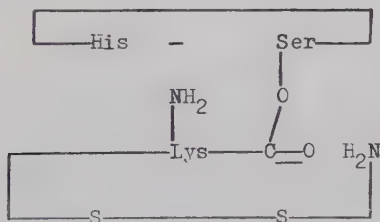
Die Lage des Gleichgewichts wird vom pH, dem Konzentrationsverhältnis Enzym zu Inhibitor und eventuell der Substratkonzentration im Medium bestimmt. Das reaktive Zentrum des Inhibitors lagert sich an das aktive Zentrum des Enzyms an. Dieser Vorgang läßt sich als Proteolyse an einer bestimmten sterisch günstig gelegenen Peptidbindung beschreiben, wobei der proteolytische Vorgang an verschiedenen Stellen des Reaktionsmodells unterbrochen sein kann (16).

1. Durch einfache Anlagerung einer definierten funktionellen Gruppierung des Inhibitormoleküls an das aktive Zentrum des Enzyms ist bereits Hemmung möglich.



Diskutiert wird (33, 34) die Anlagerung der Epsilon-Aminogruppe des Lysinrestes oder der Guanidinogruppe des Arginins auf Inhibitorseite an den Asparaginsäurerest aus dem aktiven Zentrum des Trypsins. Bei dieser einfachen salzartigen Bindung wird keine Veränderung des Inhibitors während der Reaktion beobachtet. Der Mechanismus würde der Bildung eines einfachen Michaelis-Komplexes als ersten Schritt einer Enzymreaktion entsprechen.

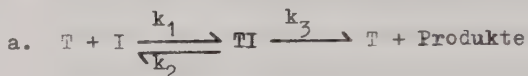
2. Diese einfache Komplexbildung kann im Sinn einer echten Proteolyse weitergehen. Es kommt zwar zur Spaltung einer definierten Peptidbindung im Inhibitor, der Zerfall in die Proteolyseprodukte unterbleibt jedoch. Die Enzymreaktion scheint auf der Stufe des Enzym-Produkt-Komplexes unterbrochen (37).



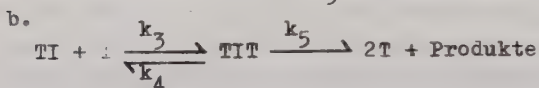
Vor allem bei Pflanzen scheint dieser Acylenzymkomplex vorzuliegen. Er wird aber weder im Komplex mit Trypsin noch in Gegenwart von überschüssigem Trypsin proteolytisch angegriffen, sondern erst durch Zerstörung der Raumstruktur mittels H-Brücken-lösender Substanzen (z.B. Harnstoff, Guanidinhydrochlorid und Erhöhung der H-Ionenkonzentration) im Sinne einer weiteren Proteolyse zerstört (37, 16).

3. Die hohe Dissoziationskonstante niedermolekularer Trypsin-Inhibitor-Komplexe bewirkt, daß dauernd geringe Mengen freien Trypsins vorliegen und deshalb weitere Peptidbindungen angegriffen werden. Dabei gehen Stabilität

des Inhibitors und Hemmwirkung verloren. Laskowsky prägte dafür den Begriff "temporary inhibition" (38). Formelmäßig ließe sich das auf folgende Weise beschreiben:



wobei k_1 sehr groß
und k_3 minimal sind



Nicht nur der native (Substrat), sondern auch der modifizierte (Produkt) Inhibitor haben proteolysehemmende Fähigkeiten (35, 36). Die Modifizierung ist aber Voraussetzung für den tryptischen Angriff (35).

IV. Polyvalenz und Spezifität

Wie die Proteasen eine mehr oder minder ausgeprägte Substratspezifität besitzen, so können auch einzelne Inhibitoren selektiv ein bestimmtes Enzym (spezifischer Inhibitor) oder eine ganze Reihe von Proteasen hemmen (polyvalenter Inhibitor).

Das Paradebeispiel eines polyvalenten Inhibitors ist das aus Rinderorganen gewonnene Trasylol^R. Es hemmt neben den Kallikreinen u.a. auch Trypsin, Chymotrypsin und Plasmin (39, 40).

Daneben wurde in den letzten Jahren eine ganze Reihe von Inhibitoren isoliert die nur ein einziges Enzym zu hemmen vermögen (41 - 43).

V. Molekulargewicht, Aminosäurezusammensetzung und Struktur von Inhibitoren

Die bisher entdeckten natürlichen Proteinaseinhibitoren sind Polypeptide mit einem Molekulargewicht in der Regel zwischen 5 000 und 60 000.

Bei vielen Proteinaseinhibitoren wurde die Aminosäurezusammensetzung aufgeklärt und danach versucht, Strukturzusammenhänge zwischen den verschiedenen Inhibitoren herzustellen. Dabei fiel auf (16), daß von den drei spezifischen Trypsininhibitoren aus Pankreas und Maissamen große Bereiche in der Aminosäuresequenz keinen Angriffspunkt für Trypsin bieten, das wie bekannt bevorzugt Lysin-X- und Arginin-X-Bindungen spaltet. Dieser Befund dürfte für die bemerkenswerte Resistenz der Hemmstoffe gegen Trypsin von Bedeutung sein. Es ist denkbar, daß diese Sequenzen an der Oberfläche des Moleküls liegen und den großen Teil der angreifbaren Peptidbindungen, mit Ausnahme der als aktives Zentrum fungierenden Bindung, gegen den tryptischen Angriff schützen. Dabei haben schon geringe Störungen der Tertiärstruktur den sofortigen Verlust der Hemmwirkung zur Folge. Die Inhibitoren werden für Trypsin angreifbar.

So konnte Steiner (44, 45) durch Reduktion der S-S-Brücken und Zerstörung der Tertiärstruktur mittels H-Brücken-lösender Stoffe die Inhibitoren inaktivieren. Zum Teil war nach Entfernen der Reagenzien die Rückbildung der Raumstruktur wieder möglich. Die Inhibitoren ließen sich reaktivieren.

Durch weniger drastische Eingriffe in die Tertiärstruktur der Inhibitormoleküle demonstrierten andere Autoren (16, 94) den Verlust der Hemmfähigkeit bereits in Harnstoff-freien Lösungen. Nach Thiolenzusatz ließ sich in Gegenwart des Substrates N-Alpha-Benzoyl-DL-arginin-p-nitroanilid-hydrochlorid (BAPNA) besonders

gut aus inaktiven Trypsin-Inhibitor-Komplexen die Reaktivierung des Trypsins an Hand der Substratspaltung zeigen.

Die das aktive Zentrum bildende Peptidbindung dürfte jeweils an einer leicht zugänglichen Stelle an der Oberfläche des Moleküls liegen.

VI. Geschichte und kurze Literaturübersicht

Vor mehr als 80 Jahren erkannte Hildebrandt (46) das Phänomen der antifermentativen Wirkung des Blutserums am Beispiel der Hemmung des Labenzym. Andere Autoren (47 - 49) dehnten die Kenntnisse über das "antifermentative Vermögen" des Serums auf weitere Enzyme aus. Die ersten Aufzeichnungen über die Art des Hemmstoffes finden sich bei Landsteiner im Jahre 1900 (50). Weinland (51) beobachtete 1903 die Widerstandsfähigkeit von Nematoden im Verdauungstrakt gegenüber Fermenten des menschlichen Organismus und suchte diese Beobachtung mit der Anwesenheit sogenannter Antienzyme zu erklären.

Einer der interessantesten Inhibitoren ist der 1930 von Frey, Kräut und Werle in Parotis, Leber, Milz und Lymphknoten des Rindes entdeckte Kallikreininhibitor (52 - 54). Kunitz und Northrop (55) konnten 1936 einen Trypsininhibitor aus Rinderpankreas kristallin darstellen. Beide Inhibitoren erwiesen sich nach weiteren Untersuchungen als identisch. Heute findet dieser polyvalente Hemmstoff mit relativ weitem Hemmspektrum breite Anwendung in der Therapie, besonders bei akuter Pankreatitis, bei Schock und Gerinnungsstörungen, unter dem Namen Trasylol^R (56 - 58).

Inzwischen sind eine ganze Reihe pflanzlicher und tierischer Inhibitoren isoliert und in ihren Eigenschaften beschrieben worden (59).

So isolierte Kazal (60) im Jahre 1948 einen selektiv nur gegen Trypsin wirksamen Hemmstoff, der sich auf Grund seiner chemischen Eigenschaften, seines Molekulargewichtes und seines Hemmverhaltens deutlich von den sog. unspezifischen Inhibitoren unterscheidet. Weitere Untersuchungen von Fritz, Trautschold und Werle ergaben, daß im Pankreas aller Spezies (41, 61, 62) spezifische Inhibitoren vorkommen.

Der am längsten bekannte pflanzliche Proteinase-inhibitor ist der 1944 von Ham und Sandstedt (63) entdeckte und anschließend von Kunitz isolierte (64) und charakterisierte Sojabohneninhibitor.

Auch bei einigen Mikroorganismen(bei *Clostridium botulinum*, *Aspergillus soyae*), aus *Ascaris*extrakten und im Eiklar gewisser Vogelarten ließen sich Proteinasehemmstoffe nachweisen.

Haendle zeigte im Tierversuch eine Abhängigkeit der Inhibitorproduktion in den Sexualorganen vom Spiegel der Sexualhormone. Die Kastration von weißen Mäusen führte zu einem Inhibitor-Abfall, während die darauffolgende Gabe von Testosteron oder Choriongonadotropin wieder zu einem Inhibitor-Anstieg führten (25).

Die antiproteolytische Wirkung des Harns ist lange bekannt. Die Erstbeschreiber (65 - 67) konnten mit ihren relativ unempfindlichen Methoden vor allem in stark eiweißhaltigen Harnen eine Hemmung der Proteolyse nachweisen. Wenig später gelang dies Döblin (68) auch bei gesunden Personen. Es stellte sich heraus, daß die höchste Hemmfähigkeit in der Schwangerschaft (97), bei Infektionskrankheiten (67 - 71), Krebs (68), Nierenerkrankungen (67, 71) und nach chirurgischen Eingriffen (69) im Harn zu messen war. Eine Beziehung zu Serum-inhibitoren konnte nicht hergestellt werden.

Durch Untersuchungen von Peanasky, Laskowsky (72) und Shulman (73) ist bekannt, daß nach Deproteinisierung von Blutplasma etwa 3% der insgesamt im Blut vorhandenen antiproteolytischen Aktivität im Überstand verbleiben. Aus dem Überstand wurde ein Proteinaseinhibitor angereichert, dem ein Molekulargewicht von 17 000 zugeschrieben wurde. Der Inhibitor besitzt ähnliche Eigenschaften wie der von Astrup und Sterndorf (74) beschriebene säurestabile Hemmstoff aus Harn, für den die Bezeichnung " Mingin" vorgeschlagen wurde (75). Faarvang untersuchte diese "Mingin"-Ausscheidung im Harn, wobei er bei Gesunden (76) starke Schwankungen, zwar nicht von Tag zu Tag, aber innerhalb kurzer Zeitabstände, feststellte. Er führte das auf stress zurück und versuchte eine Abhängigkeit zwischen der "Mingin"-Ausscheidung im Harn und dem Hypophysen-Nebennierenrinden-System nachzuweisen (77 - 82). Dabei fand sich eine Beziehung zwischen der Trypsininhibitor-Konzentration im Serum und der Ausscheidung im Urin (70, 83). Die Befunde früherer Untersucher konnte er zum großen Teil bestätigen und quantifizieren (84).

Hochstraßer und Mitarbeiter isolierten aus Bronchialsekret zwei säurestabile Inhibitoren (7 - 9, 85), die zusammen etwa 80 % der Hemmaktivität in den oberen Luftwegen ausmachen. Sie haben ein Molekulargewicht von 14 600 bzw 20 000 und fallen durch eine Kreuzreaktion mit dem Inter-Alpha-Trypsininhibitor auf (86), der jedoch ein Molekulargewicht von 140 000 besitzt. Es ist interessant, daß die säurestabilen Inhibitoren aus menschlichem Harn und Serum mit einem Molekulargewicht von 22 000 bzw 44 000 dieselbe Immunkreuzreaktion mit dem Inter-Alpha-Trypsininhibitor eingehen (87 - 91). Acylierungsversuche beweisen, daß es sich durchwegs um Arginin-Inhibitoren handelt. Sie alle hemmen Trypsin,

Chymotrypsin und Plasmin, während der Inhibitor aus Bronchialsekret zusätzlich gegen Leukozytenproteasen wirksam ist (92). Ein Vergleich der Aminosäurezusammensetzung dieser niedermolekularen Proteasenhemmstoffe ergab, daß es sich im Harn und im Serum um identische Hemmstoffe handeln dürfte, während zwischen Serum- und Bronchialsekretinhibitoren zu große Differenzen bestehen als daß eine Identität der beiden letzteren noch wahrscheinlich wäre (92). Die immunoelektrophoretische Beweglichkeit der Inhibitoren stützt diese Annahme.

Da aber die Instabilität des Inter-Alpha-Trypsin-inhibitors bekannt ist (93) -(es fanden sich mehrere Präcipitationslinien an verschiedenen Stellen der Immunelektrophorese, wenn ältere Lösungen des Inter-Alpha-Trypsininhibitors aufgetragen wurden)-, stellte sich die Frage, ob es sich bei den niedermolekularen säurestabilen Inhibitoren aus Harn, Serum und Bronchialsekret nicht um Kunstprodukte handeln könnte, die während der Isolierungsprozedur entstehen (124). Durch Affinitätschromatographie gelang es jedoch, diese Inhibitoren nicht nur aus Entwießungsüberstand von Humanplasma, sondern auch aus nativem Serum zu isolieren. Sie zeigten dieselbe Immunkreuzreaktion, gleiche Hemmspektren und identische Aminosäurezusammensetzung. Damit kann angenommen werden, daß die niedermolekularen Proteasenhemmstoffe selbständige Bestandteile des Blutplasmas sind.

Die Identität von Plasma- und Harninhibitor ist auf Grund obiger Befunde äußerst wahrscheinlich. Der Inhibitor mit dem Molekulargewicht von 22 000 scheint dabei das Monomere zu sein. Nach Hochstraßer könnten Serum- und Bronchialsekretinhibitor möglicherweise aus dem Inter-Alpha-Trypsininhibitor hervorgehen. Die Bronchialschleimhaut würde dabei in einem aktiven Prozeß einen Teil des Moleküls abspalten und ins Bronchialsekret

transportieren, während ein anderes Stück zurück ins Blut sezerniert würde. Die Antigendeterminanten sind demnach wohl an verschiedenen Stellen des Inter-Alpha-Trypsininhibitors lokalisiert.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN UND E R G E B N I S S E

I. Säurestabile Proteinaseinhibitoren in Blutplasma und Harn bei Nierengesunden

Wir untersuchten bei einem Kollektiv von 106 nierengesunden Personen Harn und Serum auf die niedermolekularen säurestabilen Proteinaseinhibitoren. Das Kollektiv setzte sich aus männlichen Patienten aller Altersgruppen mit degenerativen, nicht entzündlichen Erkrankungen der Hals-, Nasen- und Ohrenklinik zusammen. Anamnestisch konnte eine eventuell früher durchgemachte Nierenerkrankung ausgeschlossen werden. Alle Patienten hatten normale Elektrolyt- und Retentionswerte (Serumkreatinin kleiner als 1,1 mg%) und dürften somit als nierengesund bezeichnet werden. Zunächst bestimmten wir die InhibitorKonzentration in Serum und Harn nach Enteiweißung mit 70 %iger Perchlorsäure (siehe unter Abschnitt "Methoden"). Anschließend errechneten wir die Inhibitor-Tagesausscheidung durch Multiplizieren der gemessenen Harnwerte mit der über 24 Stunden gesammelten Harnmenge.

Dabei fand sich im enteiweißten Serum nur eine geringe Variationsbreite in der Verteilung der Inhibitorwerte (s. Tab. 1, Abb. 1a). Beim Auftragen der gemessenen InhibitorKonzentrationen im Serum gegen die Zahl der Patienten, die diesen Wert aufwies, ergab sich eine fast ideale Gauß'sche Glockenkurve. Der Häufigkeitsgipfel liegt bei 7 mIU/ml Serum. Mehr als 90 % der untersuchten Personen weisen eine InhibitorKonzentration zwischen 5 und 8 mIU/ml auf, wobei die Extremwerte bei 4 und 10 mIU/ml liegen. Es fiel auf, daß in den unteren

Grenzbereichen (4-5 mIU/ml) häufig Personen mit ausgesprochener Neigung zum Alkoholgenuß zu finden waren (Tab. 1, Pat.-Nr. 51,94,95,112,168,183,204,205,256). Das Ausmaß des Alkoholgenusses korrelierte dabei nicht gerade sehr streng mit den oft niedrig gemessenen Inhibitorkonzentrationen dieser Patienten im Serum. Ein im Anschluß an diese Beobachtung untersuchtes Kollektiv von 20 in ambulanter Behandlung stehender Lebercirrhose-Patienten (Lebercirrhosen verschiedener Ursache) wies im Vergleich zum Normalkollektiv ebenfalls etwas niedrigere Serum-inhibitorspiegel auf (s. Tab. 2). Über das Ausmaß der Leberzellschädigung informieren die angegebenen Laborwerte.

Die Inhibitorspiegel der nierengesunden Patienten variieren weit mehr (Abb. 1b). Es findet sich ein Häufigkeitsmaximum bei einer Inhibitorkonzentration von 6-8 mIU/ml Harn. 80 % der untersuchten Patienten weisen Inhibitorwerte zwischen 4 und 12 mIU/ml Harn auf, bei Grenzwerten zwischen 2 und 24 mIU/ml. Die höchsten Spiegel fanden sich bei zwei sehr alten Patienten (beide älter als 75 Jahre, s. Tab. 1, Nr. 164, 202) und zweimal eine Woche nach einem kleineren Eingriff am Ohr (s. Tab. 1, Nr. 19, 25). Die anderen Patienten waren alle vor einem eventuell nötigen chirurgischen Eingriff untersucht worden. Eine Beziehung zwischen der Höhe des Inhibitorspiegels im Serum und im Harn ließ sich innerhalb der Nierengesunden nicht herstellen.

Die Inhibitor-Tagesausscheidung im Harn (Abb. 1c) beträgt im Durchschnitt 10 000 mIU/Tag. Der Häufigkeitsgipfel lag bei 6 000 mIU/Tag. 80 % der Gesunden schieden zwischen 4 000 und 14 000 mIU/Tag aus. Wie die Abbildung 1c zeigt, ist die Schwankungsbreite bei der Tagesausscheidung wesentlich größer als bei der Inhibitorkonzentration im Serum. Am Rande sei noch bemerkt, daß 10 000 mIU etwa 10 mg Protein entsprechen.

II. Säurestabile Proteinaseinhibitoren in Blutplasma und Harn bei verschiedenen Nephropathien (122)

Die obigen Ergebnisse belegen, daß sich die Konzentration der säurestabilen Proteinaseinhibitoren im Serum nierengesunder Personen in sehr engen Grenzen bewegt, während die Konzentration im Harn und die Tagesausscheidung in etwas weiteren Bereichen variieren. Unter der Voraussetzung, daß der Inhibitor quantitativ in den Glomerula filtrierte wird und nicht durch negative Rückkopplung mit einem höheren Regulationszentrum in seiner Konzentration fixiert ist (das gilt selektiv für unseren niedermolekularen Inhibitor), müßten sich Störungen der Nierenfunktion frühzeitig durch Veränderung der Serumspiegel bemerkbar machen.

Nach der Porentheorie der Filtration erfolgt der Wasser- und Substanzdurchtritt durch die glomeruläre Kapillarmembran, die Basalmembran und die Podozytenschicht der Bowman'schen Kapsel über Poren, deren Durchmesser im wesentlichen dafür bestimmend ist, bis zu welcher Molekülgröße Substanzen noch filtrierte werden können (98) . Limitierend für die Molekülgröße von Substanzen, die gerade noch filtrierte werden, dürften die Porenäquivalente der Basalmembran sein, da die Kapillarfenster und die Poren zwischen den Podozytenausläufern wesentlich größer sind. Die Größe der Passagewege innerhalb der Basalmembran weist Unterschiede zwischen 2 und 45 Å als äquivalenten Porenradius auf, mit einem Häufigkeitsmaximum bei 30 Å. Das entspricht einem Grenzmolekulargewicht für den Membrandurchtritt von 80 000 - 90 000. Für den Molekülradius gilt die Näherungsbeziehung $r = 0,15 \sqrt{M} [\text{Å}]$. (99) . Mit zunehmendem Molekülradius nimmt die Filtrationsrate ab. Während Kreatinin mit einem Molekulargewicht von etwas über 100 noch zu 100 % filtrierte wird, hat Serum-

albumin mit einem Molekulargewicht von 69 000 und einem Moleküllradius von $39,1 \text{ \AA}$ nur noch eine Filtrationsrate von 1 % des Kreatinins (98, 100). Die niedermolekularen säurestabilen Proteinaseinhibitoren mit ihrem Molekulargewicht von 22 000 bzw 44 000 dürften irgenwo in der Mitte liegen. Obwohl die glomeruläre Basalmembran den Durchtritt von Proteinen weitgehend behindert, dürften doch zwischen 4 und 17 g Protein/Tag filtriert werden. Mit dem Harn ausgeschieden werden beim Menschen normalerweise nicht mehr als 100 mg/Tag. Es gibt gute Gründe anzunehmen, daß bis zu 99 % wieder rückresorbiert werden (98). Über den Mechanismus der Proteinrückresorption ist aus elektronenoptischen Untersuchungen mit markierten Eiweißkörpern nur soviel bekannt, daß proximale Tubuluszellen in Form einer Pinozytose Protein aus der Tubulusflüssigkeit aufnehmen (101). Während die proteinhaltigen Vesikel basalwärts durch die Zelle wandern, werden aus Lysosomen proteolytische Fermente in sie eingeschleußt. Ihr Volumen verkleinert sich dann zunehmend, da die Proteine offenbar durch die Enzymeinwirkung in permeationsfähige niedermolekulare Verbindungen gespalten werden, die ins Protoplasma übertreten (98).

Störungen des glomerulären (vermehrte Permeabilität oder reduzierte Anzahl funktionsfähiger Glomerula) oder des tubulären Apparates (verminderte Resorptionsleistung) müßten demnach zu charakteristischen Veränderungen der Inhibitorwerte in Serum und Harn führen. Wir untersuchten deshalb ein Kollektiv von 110 Patienten mit verschiedenen Nephropathien auf Veränderungen der Inhibitorspiegel in Serum und Harn (s. Tab. 3 und Abb. 2).

1. Ergebnisse

Die akute Pyelonephritis imponierte durch eine massive Erhöhung der Inhibitorwerte im Harn (Abb. 2/4). Es fanden sich Werte zwischen 50 und 540 mIU/ml Harn. Das bedeutet für den Extremfall eine Erhöhung um einen Faktor 50 gegenüber der InhibitorKonzentration bei Gesunden. Dieser Befund schlägt sich in einer Verzehnfachung der Inhibitor-Tagesausscheidung nieder. Wir konnten Werte zwischen 74 000 und 108 000 mIU/Tag messen. Die Serumspiegel für Inhibitor und Kreatinin waren dagegen gar nicht oder nur minimal erhöht. Es fanden sich Konzentrationen zwischen 8,2 und 10,6 mIU/ml Serum bei einem Kreatinin von 1,3 bis 1,5 mg%.

Bei der chronischen Pyelonephritis (Abb. 2/5) waren dagegen die Serum-Inhibitorwerte auf 15 - 20 mIU/ml erhöht. Parallel dazu fanden sich auch auf 1,3 - 3,2 mg% erhöhte Kreatininwerte. Die Inhibitorwerte im Harn wechselten sehr stark von Patient zu Patient. Fast noch normale Werte von 17 mIU/ml beim einen bis zu hochpathologischen von 139 mIU/ml bei einem anderen Fall waren keine Seltenheit. Die Inhibitor-Tagesausscheidung war meist stark erhöht (bis maximal 114 000 mIU/Tag). Doch auch hier gab es Ausnahmen (10 500 mIU/Tag).

Ähnliche, allerdings etwas temperiertere Verhältnisse herrschten bei den Glomerulonephritiden vor. Die akute Glomerulonephritis (Abb. 2/2) wies einen normalen Serumspiegel für Kreatinin (0,7 mg%) und Inhibitor (7,5 mIU/ml) auf. Die InhibitorKonzentration im Harn war jedoch auf 35 mIU/ml erhöht. Daß die Inhibitor-Tagesausscheidung mit 14 000 mIU/Tag noch im Normbereich lag, hatte seine Ursache in der geringen Harnmenge von nur 400 ml/Tag.

Bei der chronischen Glomerulonephritis (Abb. 2/3) zeigte sich die Einschränkung der Nierenfunktion in einer Erhöhung der Retentionswerte. Das Kreatinin war im Serum auf 1,5 - 3,6 mg% angestiegen. Der Inhibitor hatte sich parallel dazu bei Werten zwischen 13 und 29 mIU/ml Serum eingependelt. Im Harn schwankte die Inhibitor-konzentration wieder relativ stark zwischen subnormalen (4 mIU/ml) und pathologischen Werten (87 mIU/ml). Das hatte Inhibitor-Tagesausscheidungen von 7 000 bis 94 000 mIU/Tag zur Folge.

Bei der chronisch interstitiellen Nephritis (Abb. 2/6), wie z.B. Phenacetin-Niere, Gichtniere, und der chronischen Niereninsuffizienz sind alle Parameter im Serum zum Zeichen einer starken Funktionseinschränkung des Organs stark erhöht. Die Inhibitorspiegel im Serum bewegen sich zwischen 30 und 79 mIU/ml, was mehr als das 3 - 8 -fache der Norm bedeutet. Das Kreatinin hat mit Werten zwischen 2,1 und 23 mg% eine ähnliche Tendenz. Die Inhibitorwerte im Harn häufen sich im Bereich von 40 - 70 mIU/ml. In einigen Fällen steigen sie sogar auf über 100 mIU/ml Harn an. In dieser Gruppe finden wir gehäuft enorm hohe Inhibitor-Tagesausscheidungen, die bis zu einem Spitzenwert von 252 000 mIU/Tag reichen. Bei dieser Patientin (Tab. 3, Nr. 237) hatte sich auf die Niereninsuffizienz noch eine massive Pyelonephritis aufgepfropft.

Eine uneinheitliche Gruppe mit unspezifischen Nierenschädigungen ist in Abb. 2/1 zusammengefaßt: z.B. Nieren-Steine, -Tumor, -Cysten, -TBC, vasculäre Veränderungen. Deshalb finden wir auch je nach Ausmaß und Art der Schädigung entsprechend starke Veränderungen der Inhibitor-konzentration in Serum und Harn.

Tab. 4 zeigt ein Kollektiv von Dauerdialyse-Patienten. Ihre Urinausscheidung ist zum Erliegen gekommen. Es scheint sinnlos zu sein, Kreatinin- und

Inhibitor-konzentration vergleichen zu wollen, da der Inhibitor, wie wir mehrmals feststellen konnten, während der Dialyse wahrscheinlich nicht oder nur minimal aus dem Blut entfernt wird. In dieser Gruppe fanden sich die höchsten Serum-inhibitorwerte unserer Reihe, nämlich bis zu 192 mIU/ml.

Betrachtet man Abb. 3b, in der die Serumspiegel von Inhibitor und Kreatinin gegeneinander aufgetragen sind, so findet man eine lineare Zuordnung dieser beiden Parameter. Der Inhibitorspiegel im Harn ist in fast allen Fällen mit Kreatinin und Inhibitor im Serum erhöht, doch läßt sich aus Abb. 3a keine feste Zuordnung erkennen. Wir fanden in pathologischen Harnen bei erhöhten Harninhibitor-konzentrationen meist auch eine starke Proteinurie. Doch das Maß der Proteinurie ging nicht mit der Harninhibitor-konzentration parallel. Die Inhibitor-Tagesausscheidung (Abb. 3c) ist in den meisten Fällen zusammen mit dem Serumkreatinin und dem Serum-inhibitor erhöht. Die Streubreite um eine gedachte Gerade ist jedoch so groß, daß von einer festen Zuordnung nicht mehr gesprochen werden kann. Es ist durchaus möglich, daß der Inhibitor im Serum, der Inhibitor im Harn und die Inhibitor-Tagesausscheidung isoliert erhöht sind.

2. Diskussion der bisherigen Ergebnisse

Unter Pyelonephritis verstehen wir jede Art unspezifischer bakterieller Infektion, die im Nierenparenchym vor allem das interstitielle Gewebe und die Tubuli befallt. Häufigste Erreger sind Keime der Koli-Gruppe (60 - 80 %). Hauptsächlichster Infektionsweg ist die Keimascension in den ableitenden Harnwegen. Sie erfolgt wahrscheinlich nur bei Vorliegen von mechanischen oder

funktionellen Behinderungen des Urinflusses, wie Stenosen, Strikturen, Steinen, Mißbildungen und Tumoren des Harnwegsystems sowie neurogenen Blasenentleerungsstörungen. Eine wesentliche Rolle soll auch ein Rückstau des Urins aus der Blase in die Harnleiter spielen (vesikoureteraler Reflux). Entzündungen des Nierenbeckens führen fast immer zu einer Beteiligung des Nierenparenchyms. Der zweite Infektionsmodus ist der der hämatogenen Ausbreitung. Allgemeine Faktoren, die solche Entzündungen begünstigen, sind Diabetes mellitus, Schwangerschaft, Hypertonie und Medikamentabusus (Phenacetin). Bei der ascendierenden Form enthält die Schleimhaut des Nierenbeckens und das Interstitium des Nierenmarks leukozytäre Infiltrate, die sich rindenwärts ausbreiten und abscedieren können. Bei der hämatogenen Form ist das Nierenbecken zunächst nicht betroffen. Die Entzündung ist von vornherein im Rinden- und/oder Markbereich lokalisiert. Die akute Pyelonephritis geht oft einher mit Fieber, Schüttelfrost und Kopfschmerzen. Bald nach Aufflackern des Fiebers treten Schmerzen in den Nierenlagern auf. Im Urin finden sich reichlich Bakterien, Sternheimer-Zellen und Leukozytenzylinder. Ein erstes Zeichen renaler Parenchymbeteiligung ist die meßbare Proteinurie. Die Nieren können einseitig oder doppelseitig betroffen sein. Dabei braucht die Parenchymbeteiligung nicht erheblich zu sein. In den schwersten Fällen finden sich die Erreger auch im Blut (Urosepsis). Die Nierenfunktion ist im allgemeinen nicht beeinträchtigt, der Blutdruck fast nie erhöht (95, 96). Wir fanden deshalb bei unseren Patienten mit akuter Pyelonephritis auch keine Erhöhung von Kreatinin und Inhibitor im Serum. Was die Tatsache der enorm hohen Harninhibitorkonzentration und der riesigen Inhibitor-Tagesausscheidung betrifft, so haben wir dafür noch keine eindeutige Erklärung.

Wahrscheinlich aber sind diese Phänomene ein wichtiges Indiz für eine renale Parenchymschädigung mit Beteiligung des tubulären Apparates.

Beim Menschen kann sich die chronische Pyelonephritis entweder sekundär, das heißt im Anschluß an eine akute, oder schleichend, das heißt primär chronisch entwickeln. In der Mehrzahl der Fälle führt die Krankheit zu einer Schrumpfung des Parenchyms, was makroskopisch an der grobhöckrigen Oberfläche mit narbigen Einziehungen zu erkennen ist. Die histologische Untersuchung ergibt meistens eine ausgedehnte interstitielle Infiltration von bald radiär-herdförmiger, bald diffuser Anordnung, welche allmählich in Fibrose übergeht und zur Destruktion der Nierenstrukturen, vorwiegend des tubulären Apparates führt. Die Glomerula bleiben im Nierengewebe relativ lange erhalten und werden von einem charakteristischen fibrösen Maschenwerk umgeben. Im Stadium der fortgeschrittenen Schrumpfung sind sie meist hyalinisiert, die Wand der Arteriolen ist erheblich verdickt. Bei allen Pyelonephritiden, welche mit einer erheblichen Sklerose des Nierenmarkes einhergehen, kann es zur Bildung von ischämischen Papillennekrosen kommen, was im Verlauf der Krankheit Harnleiterkoliken zur Folge haben kann. Die Leukozyturie ist wechselnd und nur bei akuten Schüben ausgeprägt. Bei der Mehrzahl der Fälle finden sich Sternheimer-Malbin-Zellen und peroxydasepositive Leukozytenzylinder. Die Proteinurie ist meist sehr gering. Eine Bakteriurie ist in 80 % der Fälle vorhanden, oft begleitet von einer Mikrohämaturie. Renale Symptome sind vom Stadium der Krankheit abhängig. Druck- und Klopfschmerzhaftigkeit der Nierenlager ist oft von Anfang an vorhanden. Tubuläre Syndrome mit Dyselektrolytämie und Zeichen von Niereninsuffizienz werden meist erst spät beobachtet. Pyelonephritiden zeigen jedoch mehr zu hyperchlorämischer

Acidose und Polyurie als Glomerulonephritiden mit entsprechendem Ausfall der Nierenfunktion (95, 96). Von Buchborn wurde der Mechanismus der Störung der Harnkonzentrierung eingehend untersucht (102). Im Verlauf der Erkrankung kommt es zu einer progressiven, in der Regel parallelen Abnahme von glomerulärer Filtration und PAH-Clearance. Die Abnahme erfolgt entweder langsam und kontinuierlich oder in akuten Schüben mit partieller Restitution, gefolgt von Perioden stabiler Nierenfunktion (95). Dementsprechend vielfältig sind auch unsere Messungen beim Krankheitsbild der chronischen Pyelonephritis. In allen Fällen konnte eine nicht unerhebliche Einschränkung der Filtration mit Hilfe des Kreatininspiegels im Blut und der Kreatininclearance nachgewiesen werden, in allen Fällen war auch der niedermolekulare säurestabile Inhibitor im Serum erhöht. In einigen Fällen (Tab. 3, Nr. 146) liegt unser Inhibitor schon deutlich über der Norm (14,9 mIU/ml) und zeigt pathologische Werte an, während Kreatinin gerade auf 1,3 mg% angestiegen ist. Zu prüfen wäre noch die Frage, ob unser Inhibitor eventuell in den unteren Grenzbereichen (Kreatinin 1,1 - 1,5 mg%) eine Störung der Nierenfunktion genauer und zuverlässiger anzeigen könnte als das Serumkreatinin. Die Urinbefunde sind zu vielfältig, als daß man sie mit Sicherheit deuten könnte, da exakte Messungen der tubulären Schädigungen nicht möglich waren. Wir fanden jedoch bei der chronischen Pyelonephritis einen höheren Prozentsatz stark erhöhter Inhibitorspiegel (mehr als 100 mIU/ml) im Harn. Vielleicht gar nicht so abwegig ist der Gedanke, akute Phasen einer chronischen Pyelonephritis mit Hilfe stark erhöhter Inhibitorwerte im Harn und der enormen Inhibitor-Tagesausscheidung nachweisen zu können. Wie Tab. 3, Pat.-Nr. 237 zeigt, hatte sich auf die schon bestehende Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention noch ein akuter Schub

einer Pyelonephritis aufgepfropft und zu einer Inhibitor-konzentration im Urin und einer Inhibitor-Tagesausscheidung geführt, wie sie selbst für eine Niereninsuffizienz gewöhnlichen Charakters zu hoch erscheint. Da sich solche herausragenden Werte in unserem Patientengut nur in akuten Phasen von Pyelonephritiden fanden, glauben wir diese Befunde obigem Krankheitsbild anlasten zu dürfen. Wenn es gelänge, akute Phasen rechtzeitig zu erkennen und mit einer angemessenen Behandlung zu überwinden, könnten die Nierenfunktionen, wie dies durch verschiedene Nierenfunktionsproben gezeigt werden kann (95), wieder beinahe auf die Ausgangswerte zurückgeführt werden.

Die typische, heute seltener gewordene akute Glomerulonephritis ist eine nach bestimmten Infektionen auftretende (postinfektiöse), nichteitrige, auf dem Blutwege zustandekommende (hämatogene), beide Nieren und alle Glomerula betreffende (doppelseitig, diffuse) Krankheit, die hauptsächlich Kinder und junge Erwachsene befällt. In über 80 % der Fälle geht ihr ein Infekt im Bereich der Gaumenmandeln (Angina tonsillaris), der oberen Luftwege (Pharyngitis, Sinusitis) oder des Mittelohres (Otitis media) voraus. Das gemeinsame pathogenetische Agens sind β -hämolysierende Streptokokken der Gruppe A, und davon vor allem die Gruppen 12 und 49. Diese Erreger verursachen die Glomerulonephritis nicht durch direktes Eindringen in das Nierengewebe, sondern über eine von ihnen hervorgerufene allergische Reaktion. Als Antigen wirken Bestandteile der Bakterien, von denen sich ein Teil an der Basalmembran der glomerulären Kapillarschlingen festsetzt, während ein anderer Teil zur Bildung spezifischer Antikörper führt. Das Ergebnis der Antigen-Antikörper-Reaktion an den Glomerula ist der geschilderte glomerulonephritische Prozeß. Die zur Bildung wirksamer Antikörpermengen erforderliche Zeit erklärt, warum zwischen dem Streptokokkeninfekt

und den ersten klinischen Zeichen einer Nierenkrankheit eine Latenzperiode von meist ein bis zwei Wochen besteht (96). Der diffuse glomerulonephritische Prozeß entspricht einer Kapillaritis der Glomerulumschlingen (95). Im Frühstadium sind die Nieren makroskopisch nur wenig verändert. An der Oberfläche können sich Blutpunkte bilden, die z.T. den mit Blut gefüllten Tubuli contorti entsprechen. Mikroskopisch sind die Glomerula zu Beginn hyperämisch. Erst im weiteren Verlauf kommt es unter Durchsetzung des Kapillarknäuels mit polymorphkernigen Leukozyten zu einer Schwellung und Vermehrung der Endothel- und Mesangiumzellen. Die Fußfortsätze der Deckzellen sind verbreitert, die Basalmembran wird durch ein Ödem und Ablagerungen auf beiden Seiten verdickt, wodurch die Lumina der Schlingen eingeengt werden. Die erste Folge der entzündlichen Kapillaritis ist eine vermehrte Durchlässigkeit der Kapillaren für Eiweiß und Blutkörperchen. Die Zylindrurie ist eine Folgeerscheinung der Proteinurie. Sie ist bedingt durch eine tubuläre Eiweißausfällung. Diese Tubulusausgüsse können mit roten oder weißen Blutkörperchen, mit Epithelien beschlagen oder vermischt sein und werden anschließend mit dem Harnstrom weggetragen. Die renale Plasmadurchströmung und das Glomerulumfiltrat sind am Anfang in der Regel normal bis vermindert. Bei der akuten Glomerulonephritis sind bedeutende Stickstoffretentionen selten, genauso wie eine starke Verminderung des Glomerulumfiltrates die Ausnahme ist (95, 96). Wir konnten ebenfalls keine Erhöhung von Retentionswerten nachweisen. Kreatinin und Inhibitor im Serum unterscheiden sich durch nichts von der Norm. Die diskret ausgefallenen Urinbefunde (Proteinurie und erhöhte InhibitorKonzentration) dürften mangels Masse nicht zu Spekulationen pathophysiologischer Art verleiten, noch dazu, wo die Inhibitor-Tagesausscheidung

nicht über ein normales Maß hinausgeht.

Bei der chronischen Glomerulonephritis handelt es sich um eine Gruppe hämatogener, doppelseitiger Nierenkrankheiten, denen chronisch entzündliche bzw. vernarbende Veränderungen an den Glomerula gemeinsam sind. Ihre mehr oder weniger rasch fortschreitende Verödung bedingt, meist unter Schrumpfung des Nierenparenchyms (sekundäre Schrumpfniere) einen zunehmenden Ausfall funktionsfähiger Nephrone und damit eine progrediente Niereninsuffizienz. Die meisten chronischen Glomerulonephritiden entwickeln sich aus den akuten (sekundär chronische G.). Fälle, die eine akute Phase vermissen lassen oder bei denen diese subklinisch verläuft, werden als primär chronische Glomerulonephritis bezeichnet. Der Übergang einer akuten in eine chronische Form ist ein noch nicht endgültig geklärtes Problem. Sicher ist bisher nur, daß es sich ebenfalls um einen immunologischen Vorgang handelt, wobei wahrscheinlich die erwähnten Streptokokkenbestandteile keine Rolle spielen, sondern vermutlich von der erkrankten Niere selber abgegebene Antigene (Autoantigene). Im Endstadium dieser Krankheit findet man kleine geschrumpfte Nieren. Mikroskopisch imponieren vor allem die glomerulären Läsionen. Charakteristisch ist das Nebeneinander von vollständig zerstörten, hyalinisierten Glomerula, von Glomerula mit intrakapillärer oder extrakapillärer Proliferation und von normalen sehr großen Nierenkörperchen. Es finden sich also gleichzeitig alle Stadien der Entzündung und der glomerulären Sklerose. Das tubuläre System ist ebenfalls verändert. Neben stark erweiterten Tubuli finden sich atrophische und degenerierte. Im Interstitium besteht eine beträchtliche entzündliche Fibrose. An den Gefäßen lassen sich verschiedene Veränderungen wie Arteriosklerose, Arteriolenekrose und angiotische Veränderungen erkennen. Die glomerulären und

vaskulären Läsionen bedingen eine Verminderung des Glomerulumfiltrates und der renalen Plasmadurchströmung. Während die Glomerulumschlingen bei der akuten Glomerulonephritis gut durchblutet sind, findet man sie bei der chronischen Form partiell obliteriert und eingeengt, was unter anderem den diskreten Urinbefund erklären kann. Die zunehmende Ausdehnung der renalen Läsionen äußert sich in einer Verminderung der Clearancewerte und führt schließlich zur Niereninsuffizienz. Im Verlauf von Jahren treten ab und zu akute Schübe auf mit unvollständiger, meist nicht typischer Symptomatologie (95, 96). Parallel der Verminderung des Glomerulumfiltrates fanden wir bei der chronischen Glomerulonephritis eine Erhöhung der Inhibitor- und Kreatininspiegel im Serum. Die Funktionseinschränkung wird von der InhibitorKonzentration z.T. weit deutlicher angezeigt als vom Kreatinin (Tab. 3, Pat.-Nr. 48, 153) zum selben Zeitpunkt. Auffallend ist, daß extreme Harninhibitor-konzentrationen weitgehend fehlen. Die Urinbefunde sind zum Teil erhöht, aber wesentlich diskreter als bei der Pyelonephritis. Die Pathologie dürfte sich aus einer Überlagerung von glomerulären und geringgradigeren tubulären Störungen erklären lassen, wobei die einzelnen Komponenten nicht eindeutig getrennt werden können.

Die chronisch interstitielle Nephritis steht in enger Beziehung zu der chronischen Pyelonephritis, läßt aber akute Phasen vermissen. Pathogenetisch wird ein langzeitiger Phenacetinabusus mit zusätzlicher bakterieller Infektion des interstitiellen Nierengewebes diskutiert. Histologisch findet man in fortgeschrittenen Stadien eine breite Sklerosierung des Interstitiums mit ausgedehnten Infiltraten aus Lymphozyten, Plasmazellen, Histiozyten und Fibrozyten. Der Prozeß verläuft schleichend. Oft wird die Diagnose erst bei manifester Nieren-

insuffizienz gestellt. Die chronische Niereninsuffizienz ist gekennzeichnet durch progressive Einschränkung der Nierenfunktion infolge zunehmenden Ausfalls funktions-tüchtiger Nephrone. Im ersten Stadium ist lediglich die Leistungsbreite eingeschränkt. Das Glomerulumfiltrat ist bis 50 ml/min vermindert. Klinisch äußert sich das in einer Einschränkung der Konzentrationsfähigkeit im Konzentrationsversuch und in Nykturie. Im Stadium der kompensierten Retention ist das Glomerulumfiltrat bis auf etwa 20 ml/min vermindert. Die harnpflichtigen Substanzen im Blut steigen an. Im Stadium der fortgeschrittenen kompensierten Retention ist die glomeruläre Filtrationsrate unter 20 ml/min vermindert. Zusätzlich werden Anämie, Hyperphosphatämie, Hypokalzämie und Azidose beobachtet. Sie endet im Stadium der Urämie, wo klinisch zentralnervöse Alterationen, gastrointestinale Störungen und eine urämische Perikarditis hinzutreten. Pathophysiologisch ist die Zahl der funktionstüchtigen Nephrone reduziert, wobei die Restnephrone unter osmotischer Diurese stehen. Das Unvermögen, die durch den Stoffwechsel endogen gebildeten Säureäquivalente (80 mval/die) zu eliminieren, führt zur metabolischen Azidose. Die eingeschränkte Regulationsbreite der Natriumausscheidung durch die Niere kann sowohl zu Na-Retention mit Ödemen, als auch bei salzarmer Ernährung zu renalem Salzverlust mit Dehydratation und volumenmangelbedingtem Abfall des Glomerulumfiltrates mit weiterem Harnstoffanstieg führen. Die chronische Niereninsuffizienz beeinträchtigt auch zahlreiche Organsysteme, wobei im Grunde jedes Organ betroffen ist. (95, 96). Der starke Anstieg der Retentionswerte nimmt also nicht wunder. Parallel zum Kreatinin ist die Inhibitor-konzentration im Serum stark erhöht, was seine Ursache in der Verminderung der glomerulären Filtration hat. Ebenso massiv erhöht sind Inhibitorspiegel und -Tagesausscheidung im Harn. Das

dürfte in der Funktionsbeeinträchtigung aller Partialaufgaben der Niere seine Ursache haben. Wie hoch die InhibitorKonzentration im Blut ansteigen kann, wenn sie nicht durch funktionstüchtige Nieren niedrig gehalten wird, zeigt das Beispiel der Dialysepatienten. Die Ausscheidungsfunktion der Nieren ist zum Erliegen gekommen. Folge ist ein rascher Anstieg harnpflichtiger Stoffwechselprodukte im Serum. In dieser Situation kann durch intermittierende Behandlung mit der künstlichen Niere diese Anhäufung von Stoffwechselschlacken vermindert und somit der Gehalt des Blutes an diesen Substanzen nahezu normalisiert werden. Durch Diffusion verschwinden die niedermolekularen Stoffwechselabbauprodukte über eine semipermeable Membran in die Austauscherrflüssigkeit. Der Inhibitor ist wegen seines relativ hohen Molekulargewichtes wahrscheinlich nicht dialysabel. Wir bekommen deshalb im Blut Inhibitorspiegel bis zu Werten von fast 200 mIU/ml, was mehr als das 20-fache der ursprünglichen 3 % antiproteolytischen Aktivität bedeutet, die nach Enteiweißen im Serum verbleibt (72, 73). Warum sich gerade die gemessenen Inhibitorspiegel bei Dialyse-Patienten einstellen, ist nicht bekannt. Wahrscheinlich spielen Bildungsrate und Verbrauchserscheinungen eine regulierende Rolle.

Diese Untersuchungen haben bewiesen, daß die Bestimmung des Seruminhitorspiegels zuverlässig jede Einschränkung der glomerulären Funktion anzeigt. Die lineare Beziehung zum Kreatinin macht das deutlich. Wenn die Kreatininwerte im Serum an der Grenze der Norm liegen, ist der Inhibitorspiegel schon deutlich erhöht. Offensichtlich zeigen Veränderungen des Inhibitors im Blut eine Störung der Nierenfunktion noch vor dem Kreatininspiegel an.

Zieht man jedoch die Inhibitorspiegel im Harn und die Inhibitor-Tagesausscheidung zur Diagnostik heran,

so muß man in einem weit höheren Prozentsatz mit sogenannten Fehldiagnosen rechnen, da schon die natürliche Schwankungsbreite sehr groß ist. Grobgesprochen könnten sie eventuell zur Diagnose akuter tubulärer Läsionen herangezogen werden, obwohl die Verhältnisse nicht einfach erscheinen. In wenigen Fällen ist mit Hilfe der Werte aus dem Harn eine Differenzialdiagnose (vor allem bei Pyelonephritiden) möglich. Dazu sind aber noch weitere Untersuchungen nötig.

Ein weiterer Vorteil der Inhibitor-Bestimmung in Serum und Harn liegt in der einfachen Ausführbarkeit des klinischen Tests. Eventuell kann eine Automatisierung ins Auge gefaßt werden.

III. Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren im Blutplasma und im Harn nach Nierentransplantation (123)

Unsere Untersuchungen über das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren bei verschiedenen Nephropathien in Serum und Harn haben gezeigt, daß bereits geringe Funktionsstörungen der Niere einen meßbaren Anstieg des Inhibitors im Serum zur Folge haben. Eine starke Ansprechbarkeit auf Funktionsänderungen der Niere scheint vor allem nach Nierentransplantation von größter diagnostischer Wichtigkeit zu sein. Es besteht ein vitales Interesse an der frühzeitigen Erkennung einer Transplantatkrise, da sie mit höheren Dosen von Corticoiden und Immunsuppressiva in der Regel unterdrückt werden kann. Dies veranlaßte uns, das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren in Serum und Harn nach Nierentransplantation näher zu untersuchen und für prognostische Aussagen auszuwerten.

Akute Transplantatkrisen treten auf, wenn sich das unter Immunsuppression eingetretene immunologische Gleichgewicht bei Homotransplantatträgern zu Gunsten der immunologischen Abwehr verschiebt. Der Abstoßungskomplikation kann man theoretisch und praktisch von verschiedenen Angriffspunkten her entgegentreten (103):

1. Ansatz: Spender

- a. Geeignete Spenderwahl nach den Gesichtspunkten:
Uneingeschränkte Nierenfunktion und möglichst gute Verträglichkeit der Histokompatibilitäts-Antigene mit dem Empfänger (bis heute sind über 30 Histokompatibilitätsantigene bekannt).
- b. Entspezifizierung des Transplantats

2. Ansatz: Empfänger

- a. Einfluß auf die Toleranz durch Applikation von körperfremden Antigenen in der Embryonalzeit
- b. Ganzkörperbestrahlung (Zerstörung des Immunsystems)
- c. Immunsuppression

Was die Immunsuppression betrifft, so erhöht ein Zuviel die Infektanfälligkeit des Empfängers und hat möglicherweise auf die Dauer ein erhöhtes Tumor-Risiko zur Folge (103). Ein Zuwenig führt auch bei weitgehender Übereinstimmung der bekannten Histokompatibilitätsantigene zwischen Spender und Empfänger zur Abstoßung des Transplantats (103). Wünschenswert wäre demnach eine mäßige Immunsuppression, wobei man höher dosieren könnte, bevor eine schleichend verlaufende Abstoßung sich durch akut aufgepfropfte Schübe endgültig verschlechtern sollte (104).

Eine Abstoßungskrise beginnt mit funktionellen Störungen, Abnahme der corticalen Durchblutung infolge Vasokonstriktion, mit Absinken des glomerulären Plasmaflusses und der glomerulären Filtration. Die frühzeitige Erkennung einer Abstoßungskrise ist für eine erfolgreiche Behandlung von großer Wichtigkeit. Es wurde daher

in den letzten Jahren nach Parametern gesucht, die eine frühzeitige Erkennung der akuten Abstoßung ermöglichen sollen (205 - 220). Wir überprüften die Brauchbarkeit der Inhibitorbestimmung bei der Funktionskontrolle transplantierten Nieren an 8 Patienten. In einem Zeitraum von 1 bis 5 Wochen nach der Transplantation wurde täglich die InhibitorKonzentration in Serum und Harn bestimmt und in Relation zum Serumkreatinin gesetzt.

1. Ergebnisse

In den Abbildungen 4 - 7 (Tab. 5 - 8) sind Veränderungen der Inhibitor- und Kreatininkonzentration im Serum und der Inhibitor-Tagesausscheidung wiedergegeben, wie sie für vier verschiedene postoperative Verläufe nach Nierentransplantation typisch sind.

Die Abb. 4 zeigt das Verhalten der drei Parameter bei einer erfolgreichen, aber mit zwei Abstoßungskrisen einhergehenden Nierentransplantation vom 1.-15. Tag pOp. Bis zum 3. Tag kommt es entsprechend dem Abfall des Serumkreatinins von 5,2 auf 1,3 mg% zu einem Abfall des Serum-Inhibitorspiegels von 48 auf 12 mIU/ml. Gleichzeitig kommt es in diesem Zeitraum zu einer enormen Ausscheidung des Inhibitors im Urin. Diese Befunde deuten zunächst auf eine volle Funktionsaufnahme des Transplantats hin. Bei weiterer Normalisierungstendenz des Serumkreatinins vom 3. bis 5. Tag war ein kontinuierlicher, wenn auch minimaler Anstieg des Serum-Inhibitorspiegels auffällig. Ein deutlicher Anstieg des Serumkreatinins als Indikator für eine Abstoßungskrise war jedoch erst vom 5. auf den 6. Tag feststellbar. Unter Cortisongabe (1000 mg für 4 Tage) kam es am 7. Tag zwar zum Absinken des Kreatininspiegels, die Serum-InhibitorKonzentration stieg jedoch vom 7. bis 10. Tag

- - -

erneut an. 24 Stunden später kam es dann auch zu einem Ansteigen des Kreatinins und zu einer für eine Abstoßungskrise typischen Lokalbefund am Transplantat. Nur durch eine 3-tägige Gabe von je 200 mg Actinomycin konnte eine dauerhafte Funktion des Transplantats sichergestellt werden. Der Inhibitorspiegel sinkt.

Abb. 5 (Tab. 6) zeigt das Verhalten der untersuchten Parameter bei einem Transplantat, das erst im Verlauf der zweiten Woche - bei vorangegangener Anurie und dadurch bedingter viermaliger Dialyse - die Funktion voll aufnahm. Aus der Kurve ist ersichtlich, daß bereits bei geringer Ausscheidung des Inhibitors der Serumspiegel abfällt (7. Tag). Dies kann als Anzeichen der Funktionsaufnahme gewertet werden, während die Kreatininwerte eine solche Aussage noch nicht zulassen. Obwohl wegen der hohen Kreatininwerte im weiteren Verlauf noch eine zweimalige Dialyse notwendig war, geben der kontinuierliche Abfall des Inhibitorspiegels im Serum und der Anstieg der Inhibitorausscheidung einen frühzeitigen Hinweis für die beginnende Funktionsaufnahme des Transplantats. Durch die Hämodialyse wird der Serum-inhibitorspiegel offensichtlich nicht beeinflusst.

Abb. 6 (Tab. 7) gibt die Verhältnisse bei einer trotz Therapie nicht verhinderbaren chronischen Abstoßungsreaktion wieder. Nach anfänglich guter Funktionsaufnahme (Abfall des Serum-inhibitorspiegels und der Kreatininkonzentration, Anstieg der Inhibitorausscheidung) mußte am siebten Tag eine klinisch und klinisch-chemisch indizierte Abstoßungskrise therapeutisch mit Cortison angegangen werden. Daraufhin kam es bis zum 22. Tag zu einem Abfall der Kreatininwerte und zu einer zunehmenden Ausscheidung des Inhibitors. In diesem Zeitraum fallen jedoch drei Maxima der Serum-inhibitor-konzentration auf, die trotz fallender Kreatininkonzentration eine schlechte Prognose

anzeigen.

Eine Transplantation, bei der es am 6. Tag zu einer irreversiblen Abstoßungskrise mit notwendiger Nephrektomie kam, gibt Abb. 7 (Tab. 8) wieder. Auch hier muß der plötzliche Anstieg der Seruminhibitorkonzentration vom 2. auf den 3. Tag trotz weiterhin fallender Kreatininwerte im Sinne einer Abstoßungskrise gedeutet werden. Bestätigt wird dieser Verdacht durch den steilen Anstieg des Seruminhibitorspiegels am 6. Tag begleitet von einem starken Abfall der Inhibitorausscheidung mit völligem Sistieren bei Anurie.

2. Diskussion

Die am einfachsten durchführbaren und verlässlichsten klinisch-chemischen Methoden zur Früherfassung einer Abstoßung nach Nierentransplantation scheinen bisher die Bestimmung des Serumkreatinins und die Kreatinin-clearance zu sein. Dazu kommen noch Isotopenausscheidungsmethoden und Serinangiographie aus der Radiologie. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen ergaben, daß die Seruminhibitorkonzentration im Vergleich zum Kreatinin in keinem Fall zur Stellung einer falsch positiven oder falsch negativen Prognose führte. Bei Abstoßungskrisen konnte das Ereignis z.T. 24 Stunden vor einem manifesten Kreatininanstieg im Serum vorausgesagt werden.

Postoperativ kontinuierlicher Abfall des Seruminhibitorspiegels bei gleichzeitig guter Ausscheidung des Inhibitors über die transplantierte Niere läßt eine gute Prognose zu. Selbst in Fällen (Abb. 5), wo das Serumkreatinin ~~immer wieder~~ immer wieder eine Dialyse erforderte, konnte auf Grund des Verhaltens der Inhibitorspiegel in Serum und Harn eine -wenn auch langsam beginnende - Funktionsaufnahme des Transplantats

angenommen werden, was sich auch im weiteren Verlauf bestätigte. Die Inhibitor-Bestimmung hat den Vorteil, daß der Inhibitor bei einer eventuell nötig gewordenen Dialyse nicht mit aus dem Blut entfernt wird, sondern weiterhin zuverlässig und genau Aufschluß über den Verlauf des Transplantationserfolg gibt. Er stellt sich auf einen von der Niere gerade noch zu bewältigenden Spiegel ein und zeigt jede Funktionsveränderung nach oben oder unten deutlich an. Eindeutig war mit unserer Methode auch eine Abstoßungskrise trotz abfallender Kreatininspiegel zu prognostizieren. Innerhalb der ersten 12 - 24 Stunden kommt es in diesen Fällen zu einem steilen Anstieg des Seruminhibitorspiegels und einem Abfall der Ausscheidung.

Wir glauben deshalb, daß die Bestimmung des Seruminhibitorspiegels zusätzlich zur Kreatininbestimmung für die Beurteilung der Funktionsaufnahme oder Funktionseinstellung eines Nierentransplantats von Vorteil sein könnte. Die Methode ist so einfach, daß der Schnelltest leicht mehrmals am Tag ausführbar ist.

IV. Material und Methoden

1. Material

Trypsin (EC 3.4.4.4.) vom Rind behandelt mit TPCK
N^α-Benzoyl-D,L-Arginin-4-nitroanilid Merck/Darmstadt

2. Vorbereitung der Blut- und Harnproben

a. Erythrozyten abzentrifugieren

b. Enteiweißen: 5 ml Serum

+0,5 ml Perchlorsäure 70 %

c. Zentrifugieren bei 5000 U (10 min)

d. Überstand filtrieren

e. Neutralisieren auf pH 7,8: z.B. 2,5 ml Überstand

+0,2 ml NaOH

3. Stammlösungen

10 mU Trypsin (bei der von uns verwendeten Enzym-
präparation etwa 12 µg) in 0,2 ml 0,0025 N HCl

0,2 M Triäthanolamin-HCl-Puffer, pH 7,8

BAPNA gelöst in Wasser mit einer Endkonzentration
von 73 µmol/l

4. Testansatz

0,2 ml Trypsin

1,2 - 1,8 ml Puffer

0,6 - 0 ml Testlösung

Start mit 1 ml BAPNA

• ΔE_{405} der ungehemmten Reaktion = 0,033/min

5. Bestimmung der Inhibitoren an Hand der Hemmkapazität

Es wurde die antiproteolytische Wirkung der Lösungen gegen Trypsin bestimmt. Eine Inhibitormiliunit (mIU) ist diejenige Inhibitormenge, die 1 mU Trypsin zu hemmen vermag. Eine Trypsinmiliunit ist diejenige Trypsinmenge, die 1 µmol N^α-Benzoyl-D,L-arginin-4-nitroanilid pro Minute bei 25°C hydrolysiert. Spektrophotometrisch bewirkt 1 Trypsinmiliunit unter Standardbedingungen eine Extinktionszunahme von $E = 0,0033/\text{min}$ bei 25°C. Die Verminderung der Extinktionszunahme um den gleichen Betrag bei Inhibitorzusatz in Trypsinstandardansätzen zeigt 1 mIU an (121).

V. Zusammenfassung

1. Einleitend wurde ein Überblick über Geschichte, Vorkommen und Funktion natürlicher Proteasenhemmstoffe gegeben. Ihre biochemische Wirkungsweise wurde, soweit bekannt, dargelegt.
2. Wir bestimmten die natürliche Streubreite von Serum- und Harnspiegeln der säurestabilen Proteaseninhibitoren an 106 nierengesunden Personen. Dabei bot sich für die Serum-inhibitorspiegel eine fast ideale Gauß'sche Glockenkurve mit geringer Streubreite, während der Inhibitorspiegel im Harn und die Inhibitor-Tagesausscheidung in etwas weiteren Bereichen variierten.
3. An 110 Patienten mit verschiedenen Nephropathien untersuchten wir das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren in Serum und Harn und bestimmten die Inhibitor-Tagesausscheidung. Einige Krankheitsbilder imponierten durch charakteristische Werte, so z.B. die akute Pyelonephritis mit hohen Harninhibitorspiegeln und enormer Inhibitor-Tagesausscheidung. Wir konnten eine lineare Beziehung zwischen Inhibitor- und Kreatinin-spiegel im Serum nachweisen. Dabei scheint der Serum-inhibitorspiegel in vielen Fällen noch vor dem Kreatinin eine Nierenfunktionsstörung anzuzeigen.
4. An 8 Nierentransplantierten konnten wir durch tägliche Kontrolle des Inhibitorspiegels im Serum und der Inhibitor-Tagesausscheidung den postoperativen Verlauf des Transplantationserfolges gut prognostizieren und eine Abstoßungsreaktion z.T. 24 Stunden vor einem manifesten Kreatininanstieg nachweisen. Der Inhibitor hat gegenüber dem Kreatinin den weiteren Vorteil, daß er bei einer eventuell nötigen Dialyse nicht mit aus dem Blut entfernt wird. Er bleibt auf dem von der Niere gerade noch bewältigten Pegel stehen und zeigt damit jede Funktionsänderung deutlich an.

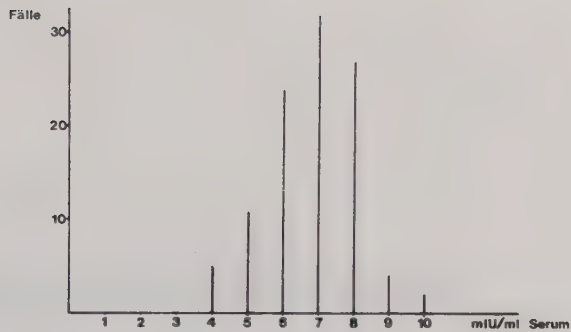


Abb. 1a: Verteilung der Seruminhbitorspiegel bei Normalpersonen

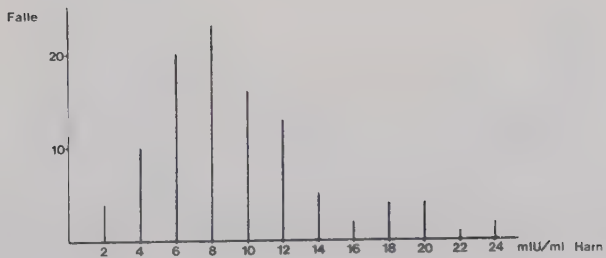


Abb. 1b: Verteilung der Harninhbitorspiegel bei Normalpersonen

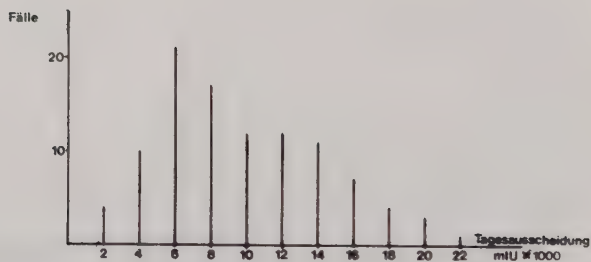


Abb. 1c: Verteilung der Inhibitor-Tagesausscheidungen
bei Normalpersonen

Abb. 2: Verteilung der Inhibitor-Werte bei den verschiedenen Nephropathien

- 1: Uncharakteristische Nierenschädigungen
z.B. Nieren-Steine, -Tumor, -Cysten, -TBC,
Nierenarterienstenose und andere vaskuläre Veränderungen
- 2: Akute Glomerulonephritis
- 3: Chronische Glomerulonephritis
- 4: Akute Pyelonephritis
- 5: Chronische Pyelonephritis
- 6: Chronisch interstitielle Nephritis
- 7: Chronische Niereninsuffizienz
- 8: Normal-Kollektiv

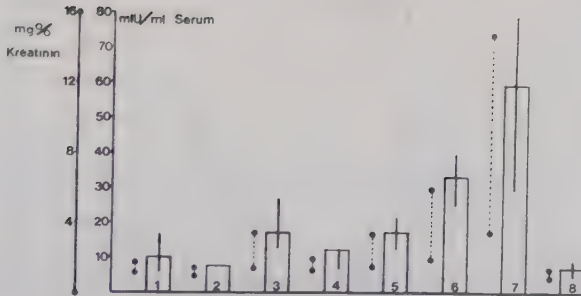


Abb. 2a: Verteilung der Inhibitor-Werte bei den verschiedenen Nephropathien im Serum.
Zum Vergleich ist daneben die Schwankungsbreite des Serumkreatinins angegeben (• ± - - - •).

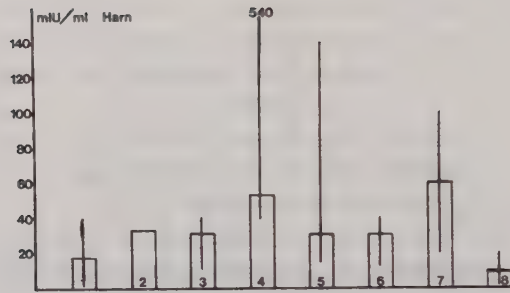


Abb. 2b: Schwankung der Inhibitor-Konzentration im Harn bei verschiedenen Nephropathien

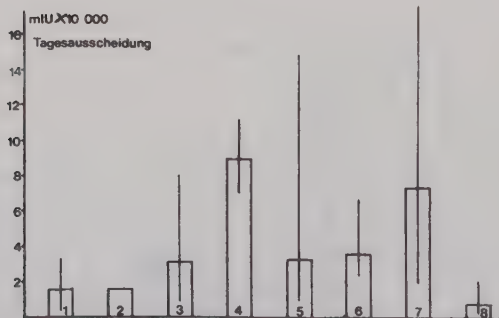


Abb. 2c: Schwankungsbreite der Inhibitor-Tagesausscheidung bei verschiedenen Nephropathien

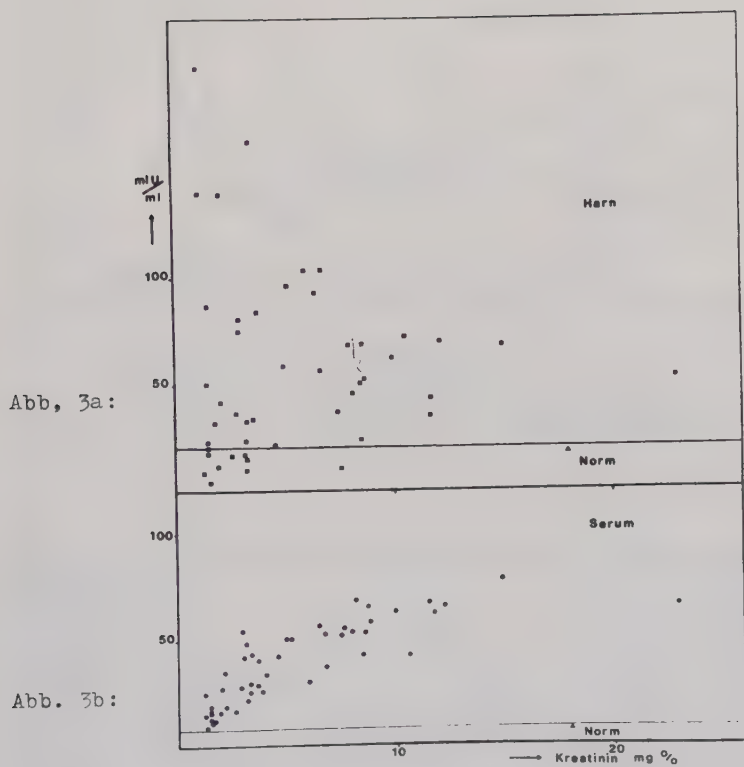


Abb. 3a und 3b: Harn- bzw. Serum-inhibitorspiegel in Abhängigkeit vom Serumkreatininspiegel bei verschiedenen Nephropathien

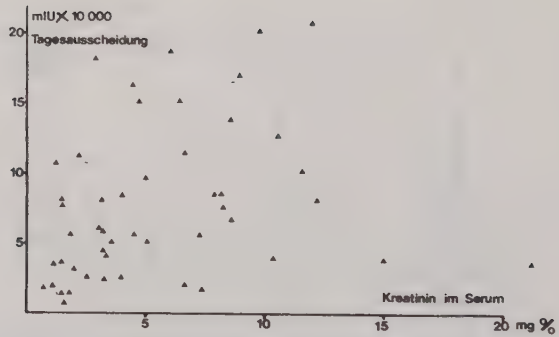


Abb. 3c: Inhibitor-Tagesausscheidung in Abhängigkeit zum Serumkreatininspiegel bei verschiedenen Nephropathien

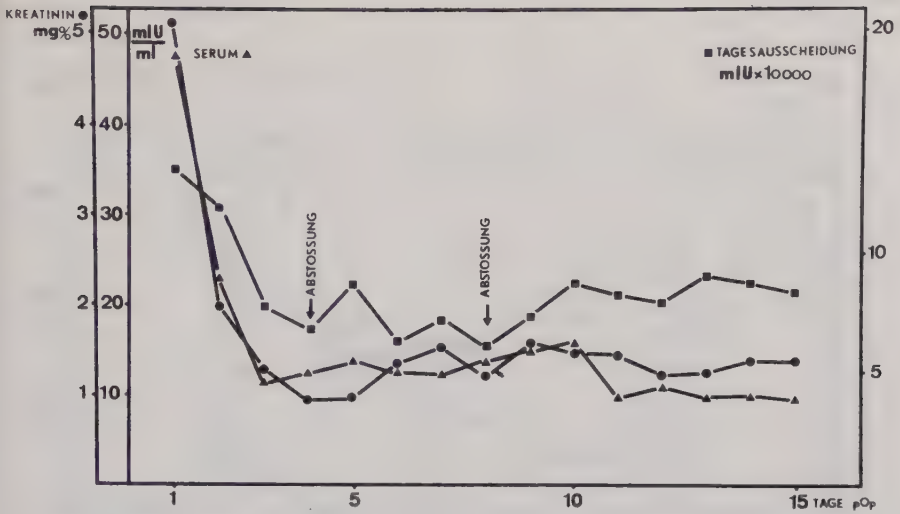


Abb. 4: Günstiger Verlauf einer Nieren-Transplantation

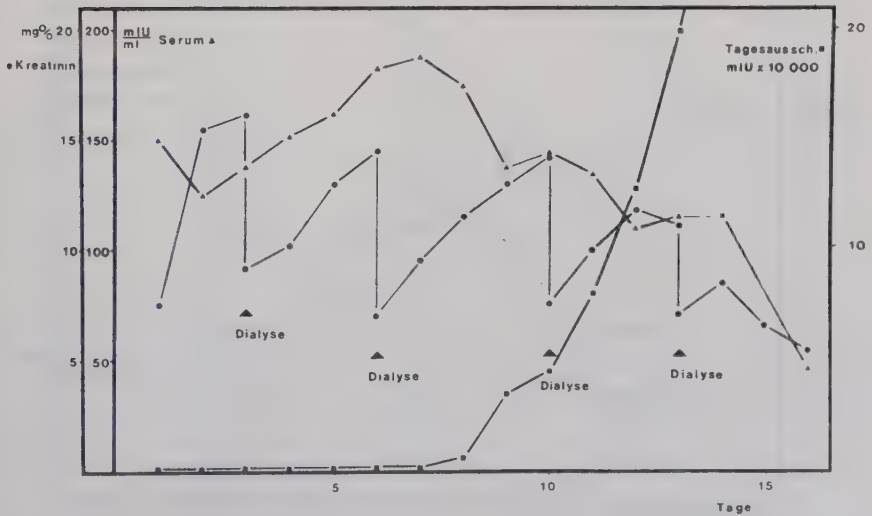


Abb. 5: Günstiger Verlauf einer Nierentransplantation

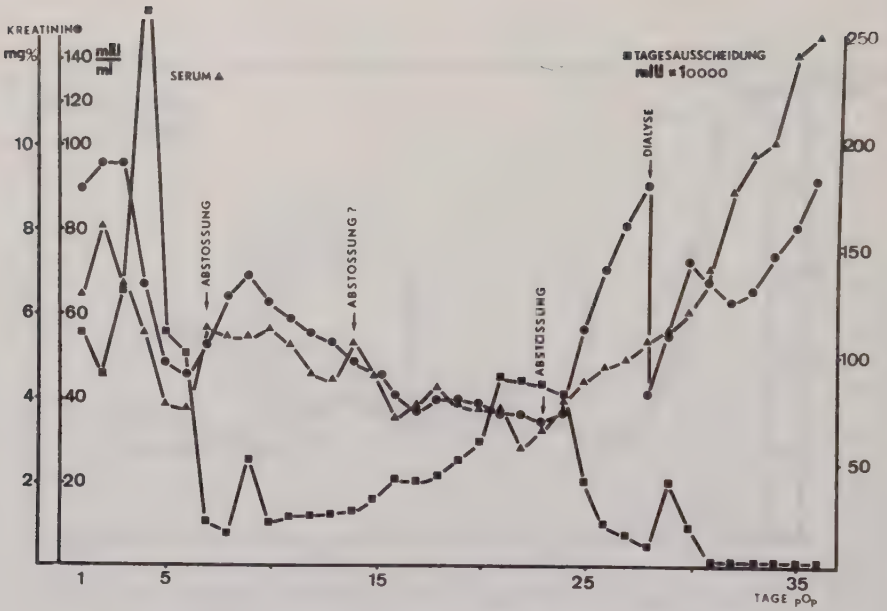


Abb. 6: Chron. Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation

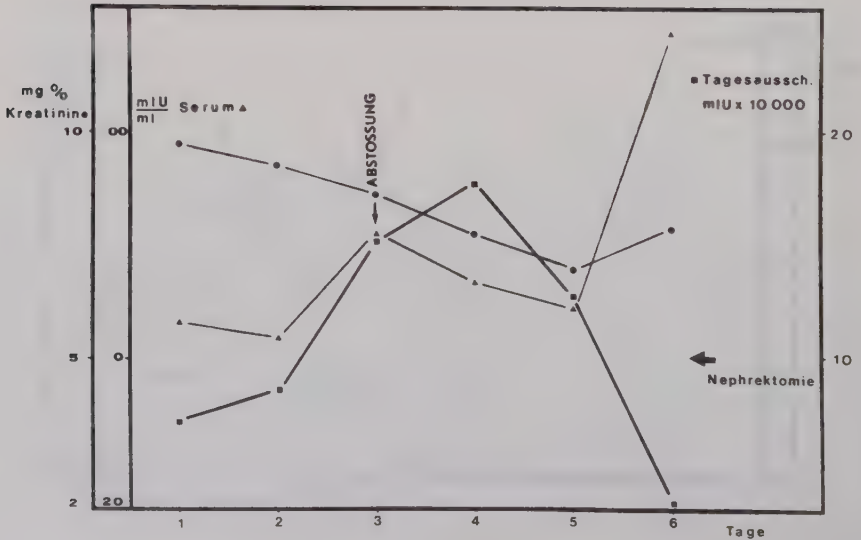


Abb. 7: Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation

Tabelle 1: Nierengesunde

Patient	Serum-Inhibitor mIU/ml	Harn-Inhibitor mIU/ml	Inhibitor-Tagesaus- scheidung mIU/Tag
1	7,3	5,4	6 500
3	4	3,7	4 050
5	--	4	2 800
6	6,9	6,1	6 400
8	8,2	12,1	18 000
10	6,9	--	---
14	6,9	--	---
15	5,7	8,1	8 900
17	9,2	9,2	12 000
18	9,9	7,2	12 150
19	6,4	20,4	---
20	--	11	15 000
22	8,1	10,1	15 000
24	5,3	--	---
25	6,9	24	22 000
26	8,3	9,9	11 000
27	6	13,2	11 100
28	--	8,9	7 600
29	6,4	14,5	5 800
31	7,2	5	6 700
32	6,8	17,1	14 500
33	8,3	8,9	17 800
34	6,1	10,4	9 300
35	7	11,1	12 400
36	6,3	12,9	13 300
37	9,6	19,8	13 800
38	7,3	6	9 000
39	6,7	9,9	10 200
41	7,6	6	6 000
42	7,1	6	4 450

Tabelle 1: Nierengesunde

Patient	Serum-Inhibitor mIU/ml	Harn-Inhibitor mIU/ml	Inhibitor-Tagesaus- scheidung mIU/Tag
43	4,8	11,9	15 200
49	5,9	9,8	13 800
51	4,5	2,5	2 580
52	7,2	7,1	6 900
53	7,4	3	6 760
54	5,9	5,1	6 100
55	7,1	7,1	18 900
56	9,6	2	6 600
59	7,7	14,9	9 300
60	8,2	4,9	7 360
61	4,8	7,8	8 600
68	8,1	12,1	12 100
69	7,1	18	17 000
83	9,4	3,7	2 900
84	4,4	11	16 500
90	6,6	9	10 000
91	8,8	3,7	5 550
92	8,3	10,1	12 100
93	7,9	12,5	20 200
94	4,5	13,1	16 400
95	3,8	3	4 680
96	6	2,2	3 200
108	8,1	8,3	11 200
112	5,9	8,3	6 360
113	6	7,1	7 140
114	6,3	5,4	10 800
115	8	7,1	9 800
118	8,3	8,4	6 620
123	--	6,4	7 040
127	5,8	7	3 700

Tabelle 1: Nierengesunde

Patient	Serum-Inhibitor mIU/ml	Harn-Inhibitor mIU/ml	Inhibitor-Tagesaus- scheidung mIU/Tag
128	8	14,9	10 100
129	7,6	12,5	13 750
134	7,4	23,5	11 700
150	7,8	--	---
156	8,4	4,7	6 600
157	5,2	16,3	8 980
158	6,4	12,9	16 800
164	--	20,2	4 040
165	--	5,3	7 900
166	6,9	5,1	7 050
167	7,5	9,4	9 100
168	5,2	7,6	8 750
169	5,2	9,4	6 550
170	6,9	9	13 500
174	8,2	5,2	2 320
175	5,8	2,3	2 580
178	8,5	6,4	14 700
180	6,9	--	---
182	--	5,8	8 700
183	4,6	10,4	8 300
185	8	10,5	8 350
188	7,1	9	11 000
190	8	7,1	6 500
191	8	11	5 300
193	7,1	--	---
199	--	8,7	14 000
201	6,3	8,1	6 900
202	8	22,6	13 600
203	7,5	12,8	14 700
204	4,4	16,9	20 900

Tabelle 1: Nierengesunde

Patient	Serum-Inhibitor mIU/ml	Harn-Inhibitor mIU/ml	Inhibitor-Tagesaus- scheidung mIU/ml
205	4	5,8	7 850
208	6,3	8,1	11 800
216	8	18,9	10 500
219	7,4	7,8	6 730
220	5,3	10,1	12 600
222	6,4	5,3	---
227	7,4	5,4	5 000
228	5,3	5,4	14 900
229	7	3,6	3 800
230	7	3,6	8 200
231	6,5	7,1	5 500
232	5,3	12,5	6 500
234	9,3	7,2	9 650
235	7	5,4	7 800
238	5,8	--	---
239	8,5	--	---
240	7,4	8,9	11 400
241	7,2	--	---
243	7	6	5 650
246	10	17,9	12 200
247	7	8,3	8 300
248	6,4	--	---
249	5,9	--	---
250	5,9	--	---
256	5,3	--	---
258	8,5	9,3	4 900

Tabelle 2: Lebercirrhose-Patienten

Patient	Serum- Inhibitor	CHE	GE	Queteq	IDH	Bili	Thym
	mIU/ml	%	g%	%	mU/ml	mg%	
Normal	5-9	>76	6,6-8,6	>70	<195	1	<2
139	3,9	22	6,6	60	---	---	8,9
140	5,9	30	---	60	226	1	29,8
141	3,9	28	7,3	--	241	1,25	6,4
160(19.11)	4,0	39	6,6	--	---	---	1,4
(21.1.)	4,7	--	7,3	--	---	1,26	---
171	6,3	60	7,0	46	---	---	---
172	4,0	51	8,1	71	---	---	---
173	6,9	56	---	--	---	---	---
174	5,8	10	---	49	---	4,48	24,5
195	4,0	76	---	--	---	1,17	1,1
214	4,6	115	---	--	182	---	7,3
215	4,6	56	---	80	196	3,6	8,9
241	5,3	--	6,5	90	---	---	---
242	10	51	6,8	--	167	---	6,5
243	8,2	96	8,0	--	---	1,04	---
244	8,8	128	7,1	--	---	---	---
252	5,9	--	6,2	44	167	4,0	---
253	4,7	--	7,9	--	---	1,38	---
276	9,4	25	8,8	--	---	---	---
277	4,7	41	---	70	---	1,76	---
278	5,9	76	---	--	---	---	---

Anmerkung: Patient 242 hatte ein Serumkreatinin von 1,4 mg%.

CHE: Cholinesterase

GE : Gesamt-Eiweiß

IDH: Lactat-Dehydrogenase

Bili: Bilirubinspiegel im Serum

Thym: Thymol-Test

Tabelle 3: Nephropathien

Patient	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
---------	----------------------	---------------	--------------	---------------------	--------------------------

Akute Glomerulonephritis

143	7,6	0,7	11	34,8	13 900
-----	-----	-----	----	------	--------

Chronische Glomerulonephritis

48	16,9	1,5	--	86,5	78 000
66	27,6	2,0	49	10,8	7 560
107	19,8	---	--	37,7	94 200
125	13,2	1,5	10	19,7	9 850
147	28,5	3,6	42	38,3	50 000
153	24,8	1,3	30	8,8	14 850
179	16,1	1,9	--	33	59 500
209	13	1,6	11	4,1	6 500

Akute Pyelonephritis

40	10,6	1,5	11	49,8	74 000
72	8,2	1,3	--	540	108 000

Chronische Pyelonephritis

122	17,4	1,5	--	23,2	27 900
131	18	1,7	25	17,6	10 500
146	14,9	1,3	8	139	27 800
210	16,6	2,6	30	16,6	25 000
213	19	2,2	25	139	114 000
217	21	3,2	23	28	41 200

Tabelle 3: Nephropathien

Patient	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
---------	----------------------	---------------	--------------	---------------------	--------------------------

Nieren-Steine

77	4,4	1,2	15	7,3	26 200
78	8	---	--	4,4	16 100
102	4,7	1,0	14	6,4	7 000
124	8	1,2	14	11,9	13 200
135	12,3	---	--	14,5	29 000
136	7,1	---	--	7	16 800
142	15,6	1,6	23	38,3	19 200
212	5,8	1,0	17	2,9	4 600
242	12,3	1,4	23	4,2	2 700

Nieren-Tumor

76	9,5	1,4	--	5,8	10 300
103	16	1,3	--	261	52 000
104	7,9	1,5	--	12	26 500
130	10,9	1,3	--	23,8	12 100

Nieren-Cysten

105	13,6	1,8	14	6	21 400
233	7	1,2	14	5,4	5 100

Nieren-TBC

87	7,8	1,4	17	6,6	8 000
116	4,5	0,9	16	4,5	8 700
145	9,9	1,1	15	76,6	138 000

Nierenarterienstenose

177	9,2	1,1	27	2,9	4 200
206	7,5	0,9	14	5,8	12 800

Tabelle 3: Nephropathien

Patient	Serum-Inh. mIU/ ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
---------	-----------------------	---------------	--------------	---------------------	--------------------------

Vasculäre Veränderungen der Niere

58	7,7	1,1	14	31,2	34 300
75	5,1	1,4	--	13,4	12 000
85	13,1	1,5	26	3,7	5 600
46	12,5	1,4	14	10,7	8 600
121	9,6	1,1	11	8,9	5 300
162	6,9	0,8	--	17,6	17 600
245	16,9	1,5	--	30	27 000

Akutes Nierenversagen

50	11,1	0,7	10	3	17 000
127	32	6,6	43	122	183 000

Chronisch-interstitielle Nephritis

63	34,3	4,0	46	14,2	24 200
97	35,4	2,1	35	41	35 900
101	28,8	2,9	32	35,7	60 800

Patienten längere Zeit nach Nierentransplantation

73	29,3	4,7	68	50,4	146 000
99	35,5	4,5	33	39,5	158 000

Tabelle 3: Nephropathien
Niereninsuffizienz

Patient	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
57	50,5	5,0	49	59	97 400
64	42,4	8,5	80	49,8	74 700
71	54	3	49	79,4	180 000
79	68,3	8,7	—	50,9	137 000
80	51,3	7,4	—	36,3	54 000
82	65,4	12,2	63	65,4	209 600
86	27,1	3,2	33	14,7	22 000
88	29,3	6	70	102,4	184 000
89	55,4	23,0	130	51,5	41 200
109	53,6	8	53	68	85 200
117	57	8,9	70	64,3	170 000
120	51,7	6,8	—	101	20 200
137	62,5	11,8	—	40,3	84 500
14	50	5,1	74	97	50 000
138	29,2	3,3	40	33,3	44 900
149	36,6	6,8	—	55,7	111 000
154	41,7	10,6	75	73,4	124 000
176	79,4	15,2	42	62,5	37 500
184	41,4	4,6	61	24,4	55 600
186	41,4	3	—	69,6	83 600
189	55,3	6,5	57	94	150 000
198	55	7,6	71	10	12 000
200	62	10	—	66	39 600
218	66,7	11,6	130	46,5	97 600
223	49	3,1	39	16,1	57 000
224	52,6	8,6	105	26,8	64 300
244	43,5	3,3	18	9,5	13 300
152	26,3	3,9	44	84	84 000
237	40,5	3,7	50	164	252 000
226	31,6	3	—	41	78 000
255	68	8,2	76	47	80 000

Tabelle 4: Dialysepatienten

Patient Serum-Inhibitorspiegel in mIU/ml

110	108
111	47
258	63
259	140
260	81
261	168
263	47
264	126
265	119
266	74
267	91
268	190
269	91
270	155
271	91
272	49
273	91
274	84
279	119
280	112
281	161
282	119
284	134
285	147
286	197
287	70
288	91

Tabelle 5: Günstiger Verlauf einer Nierentransplantation
(s. Abb. 4)

Tag pOp	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
1	48	5,2		53,5	140 000
2	23	1,9	28	32	133 000
3	12,2	1,3	22	28,5	79 000
4	13	0,9	17	71,5	70 000
5	14			96,5	89 000
6	13			71,5	64 000
7	13	1,6	46	64,5	74 000
8		1,3	43	53,5	62 000
9	15,6	1,6	47	57	76 000
10	17,5	1,5	45	57	90 000
11		1,4	38	64,5	100 000
12	10,5	1,2	38	64,5	96 000
13		1,2	33	64	94 000
14	11,5	1,3	29	60	90 000
15					

Entlassen

Tabelle 6: Günstiger Verlauf einer Nierentransplantation
(s. Abb. 5)

Tag pOp	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
1	152	7,4	48	---	0
2	126	15,2	100	---	0
3	139	16,3	115	---	0
	Dialyse	9,1			
4	153	11,2	75	---	0
5	161	13	92	---	0
6	181	14,5	107	---	0
	Dialyse	7,0	52		
7	188	9,8	70	---	0
8	174	11,7	98	260	6 650
9	139	13	120	174	32 200
10	146	14,5	134	139	43 000
	Dialyse	7,3	69		
11	139	10,0	92	226	80 800
12	111	11,5	120	206	128 000
13	117	11,7	126	161	200 000
	Dialyse	7,2			
14	117	8,8	---	210	270 000
15					
16	48,6	7,8	104	140	506 000
17		6,9	92	140	530 000

Anmerkung : Am 6. Tag wurden 8 Liter Ascites mit einem
Inhibitorgehalt von 139 mIU/ml abpunktiert.

Tabelle 7: Chronische Abstoßungsreaktion nach Nieren-
transplantation (s. Abb.6)

Tag pOp	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
1	62,3	8,9	62	134	102 000
2	79,4	9,4	92	146	93 000
3	66	9,5	116	167	131 000
4	55	6,6	---	152	324 000
5	38	4,8	118	69,5	110 000
6	36,3	4,5	124	104	104 000
7	55,3	5,2	170	55,7	21 200
8	----	6,4	190	49	18 700
9	51,7	6,8	210	45,3	50 000
10	55	6,2	212	27,8	18 900
11	45,6	---	---	---	-----
12	----	---	---	---	-----
13	44	5,3	150		
14	51				
15					
16	36,3	3,7		39,3	43 000
17	38,3			37,5	41 400
18	40,4				
19					
20	36,8	3,7	136	64	57 500
21	37	3,8			
22	28		110	78,5	98 000
23		3,4			
24		4,3	117	101	86 000
25	44	5,8		101	40 000
26				57	22 800
27		8,0		82	16 500
28	52,5			75	9 000

Tabelle 7: Fortsetzung

Tag	pOp	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/ Tag
29			9,0	155	68	40 800
	Dialyse		4,0	57		
30		40,5	7,4		150	15 000
31		70,5				
32		87,4	6,0			
33						
34		94,7				
35						
36		126	8,9			
	Dialyse		3,5			

Tabelle 8: Akute Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation (s. Abb. 7)

Tag	pOp	Serum-Inh. mIU/ml	Kreat. mg%	Hst-N mg%	Harn-Inh. mIU/ml	Inhibitor-TGA mIU/Tag
1		57,2	9,8	--	60,8	79 500
2		54,5	9,6	--	111	88 000
3		78	8,9	93	168	151 000
4		65	7,6	99	258	164 000
5		62,4	6,6	110	158	127 000
6		125	7,7	127	46	23 000

Nephrektomiert

D. I I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Mansfeld, V.A., Ziegelhöffer, Z. Horakova, J. Hladovec,
Naturwissenschaften 46, 172 (1959)
2. Shain, Y., A.M. Mayer, Physiol. Plant. 18, 853 (1965)
3. Cohen, W., A.K. Balls, Poultry Sci. 34, 296 (1955)
4. Mendel, L.B., A.F. Blood, J. biol. Chem. 8, 177 (1910)
5. Laurell, C.B., S. Ericson, Scand. J. Lab. Invest.
15, 529 (1963)
6. Laurell, C.B., S. Ericson, Clin. Chim. Akta 11, 395 (1965)
7. Hochstraßer, K., H. Haendle, R. Reichert, E. Werle,
Z. physiol. Chem. 352, 954 (1971)
8. Hochstraßer, K., R. Reichert, S. Schwarz, E. Werle,
Z. physiol. Chem. 353, 221 (1972)
9. Hochstraßer, K., R. Reichert, S. Schwarz, E. Werle,
Z. physiol. Chem. 354, 923 (1973)
10. Hochstraßer, K., K. Hochgesandt, B. Rasche, Respiration
1974 i. Dr.
11. Reichert, R., K. Hochstraßer, Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-
u. Kehlkopf-Heilkunde 201, 11 (1972)
12. Ulmer, W.T., M.S. Islam, J. Bahran, Dtsch. med. Wschr.
96, 1759 (1971)
13. Laskowsky, M. u. Laskowsky jr., Advanc. Protein Chem.
9, 203 (1954)
14. Schönberger, M., H. Fiege, Behringwerkmittelungen
Heft 33, 85 (1957)
15. Fritz, H., J. Hüller, M. Wiedemann, E. Werle,
E. physiol. Chem. 348, 405 (1967)
16. Hochstraßer, K., Habilitationsschrift, Med. Fak.
Univ. München (1969)
17. Grob, D., J. gen. Physiol. 26, 423 (1943)
18. Brulman, N.A., J. biol. Chem. 213, 656 (1955)

19. Hladovec, J., Z. Horakova, V. Mansfeld, Arch. int. pharmakodyn. 128, 343 (1960)
20. Mansfeld, V., M. Rybak, Z. Horakova, J. Hladovec, Z. physiol. Chem. 318, 6 (1960)
21. Bromfenbrenner, J., J. Allergy 19, 71 (1948)
22. Rocha e Silva, M., "Anaphylaxis", International Textbook of allergy, ed. J.M. Damar, Munksgaard Copenhagen 1959 p. 11
23. Ungar, G., H. Hayashi, Ann. Allergy 16, 542 (1958)
24. Burdon, K.L., Proc. exp. Biol. 49, 24 (1942)
25. Haendle, H., Dissertation, Med. Fak. Univ. München (1966)
26. Shaw, E., Methods in Enzymology 19, 677 (1967)
27. Ozawa, K., M. Laskowsky jr., J. biol. Chem. 241, 3955 (1966)
28. Haynes, R., R.E. Feeney, Biochemistry 7, 2547 (1968)
29. Fritz, H., E. Flak, M. Gebhard, K. Hochstraßer, E. Werle, Z. physiol. Chem. 350, 933 (1969)
30. Sealock, R.B., R. Laskowsky jr., Biochemistry 8, 3703 (1969)
31. Haynes, R., D.T. Osuga, R.E. Feeney, Biochemistry 6, 541 (1967)
32. Hochstraßer, K., K. Illchman, E. Werle, Z. physiol. Chem. 350, 655 (1969)
33. Bernhard, S.A., J. Cellular Comp. Physiol. 54, 195 (1959)
34. Erlanger, B.F., Proc. Nat. Acad. Sci. US 46, 1430 (1960)
35. Tschesche, H., H. Klein, Z. physiol. Chem. 349, 1645 (1968)
36. Rigbi, M., I.J. Greene, J. biol. Chem. 241, 3955 (1968)
37. Hochstraßer, K., E. Werle, Z. physiol. Chem. 350, 249 (1969)
38. Laskowsky, M.sr., F.C. Wu, J. biol. Chem. 204, 797 (1953)
39. Frey, E.K., H. Kraut, E. Werle, Das Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren, Enke, Stuttgart (1968)
40. Werle, E., Neue Asp. d. Tras. Therapie, Bd. 3, 49 (1969)
41. Fritz, H., Habilitationsschrift, Med. Fak. Univ. München (1968)
42. Fritz, H., F. Weitinas, E. Werle, Z. physiol. Chem. 345, 168 (1966)
43. Müller, E., Dissertation, Med. Fak. Univ. München (1971)

44. Steiner, R.F., Biochem. Biophys. Acta 100, 111 (1965)
45. Steiner, R.F., Nature 204, 579 (1964)
46. Hildebrandt, H., Virchow's Arch. path. Anat.(1893),XIII,1,5
47. Fermi, C., L. Pernossi, Z. f. Hyg. u. Inf.
Bd. XIII, 83 (1894)
48. Hahn, M., Berl. klin. Wschr. (1897), 499
49. Camus, L., E. Gley, Compt. rend. Soc. de biol. 49, 825 (1897)
50. Landsteiner, K., Centr. Bakteriол.Parasitenk. 27, 357 (1900)
51. Weinland, E., Z. Biol. 44, 1 (1903)
52. Bauer, E., E.K. Frey, H. Kraut, F. Schultz, E. Werle,
Naturwiss. 17, 672 (1929)
53. Kraut, H., E.K. Frey, E. Werle, Z. physiol. Chem.
192, 1 (1930)
54. Kraut, H., E.K. Frey, E. Werle, F. Schultz,
Z. physiol. Chem. 230, 259 (1934)
55. Kunitz, M., J.H. Northrop, J. Gen. Physiol. 19, 991 (1936)
56. Marx, R., Münch. med. Wschr. 108,1267 (1966)
57. Marx, R., Neue Asp. d. Tras.-Therapie, Bd 2, S. 89
58. Mörl, F.K., W. Heller, Neue Asp. d. Tras.-Therapie,
Bd. 3, S. 161 u. 173
Creutzfeldt, W. ebenda S. 89
Nagel, M., A. Meyer, J. Schier, ebenda S. 131
Schönbach, G., ebenda S. 103
s. dort weitere Literatur
59. Vogel, R., J. Trautschold, E. Werle, Natürl. Proteinase-
Inhib., Thieme, Stuttgart (1966)
60. Kazal, L.A., D.S. Spicer, R.A. Brahinsky, J. Amer.
Chem. Soc. 70, 3034 (1948)
61. Fritz, H., E. Fink, M. Gebhard, K. Hochstraßer, E. Werle,
Z. physiol. Chem. 350, 933 (1969)
62. Fritz, H., K. Hochstraßer, E. Werle, Z. Analyt. Chem.
234, 452 (1968)
63. Ham, W.E., R.M. Sandstedt, J. biol. Chem. 154, 505 (1944)
64. Kunitz, M., Science 101, 668 (1945)

65. Müller, E., H. Kolaczek, Münch. klin. Wschr. 54, I, 354 (1907)
66. Bauer, J., Z. Reich, Biochem. Centralblatt 9, 510 (1909)
67. Bauer, J., Z. Reich, Med. Klinik 46, 1744 (1909)
68. Döblin, A., Z. Immunitätsforschung 4, 224 (1910)
69. Dillard, G.H.L., J. Lab. clin. Med. 36, 266 (1950)
70. Faarvang, H.J., C.S. Lauritsen, Scand. J. clin. Lab. Invest. 15, 483 (1963)
71. Mayehiro, A., Yokohama Med. Bull. 11, 111 (1960)
72. Peanasky, R.J., M. Laskowsky, J. Biol. Chem. 204, 153 (1953)
73. Shulman, N.R., J. Biol. Chem. 213, 655 (1955)
74. Astrup, T., J. Sterndorf, Scand. clin. Inv. 7, 238 (1955)
75. Astrup, T., K. Alkjaer, F. Soardi, Scand. J. clin. Lab. Invest. 11, 181 (1959)
76. Faarvang, H.J., Scand. J. clin. Lab. Invest. 14, 132 (1962)
77. Faarvang, H.J., Transact of the 6th Congr. of the Europ. Soc. Hematol., Copenhagen (1957), p. 447
Karger, Basel 1957
78. Faarvang, H.J., Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 98, 124 (1958)
79. Faarvang, H.J., Acta pharmacol. (Kbh) 19, 293, (1962)
80. Faarvang, H.J., Acta endocr. (Kbh) 30, 285 (1959)
81. Faarvang, H.J., Acta endocr. (Kbh.) 43, 484 (1963)
82. Faarvang, H.J., Acta pharmacol. (Kbh.) 19, 305 (1962)
83. Faarvang, H.J., C.S. Lauritsen, Enzymol. biol. clin. 1, 189, (1962)
84. Faarvang, H.J., Urinary Trypsininhibitor in man ("Minpin")
Munksgaard Copenhagen (1965)
85. Hochstraßer, K., R. Reichert, S. Schwarz, E. Werle,
Z. physiol. Chem. 353, 221 (1972)
86. Hochstraßer, K., R. Reichert, N. Heimbürger,
Z. physiol. Chem. 354, 587 (1973)
87. Crocksch, G.J., C.D. Nordshow, Intersoc. 261 (1972)
88. Hochstraßer, K., H. Feuth, O. Steiner,
Z. physiol. Chem. 354, 927 (1973)

89. Hochstraßer, K., H. Feuth, K. Hochgesandt, in Fritz, H.,
H. Teschesche: Proteinase Inhibitors, Springer Verlag
1974, S. 111 - 116
90. Procksch, G.J., J. Lane, C.C. Nordshow, Clin. Bio-
chem. 6, 200 (1973)
91. Procksch, G. J., J.I. Routh, J.M. Smith,
Clin. Biochem. 5, 242, (1972)
92. Hochstraßer, K., H. Feuth, K. Hochgesandt, Bayer-Sym-
posium V "Proteinase Inhibitors", Springer Verlag (1974) i. d. r.
93. Heide, K., N. Heimbürger, H. Haupt, Clin. Chim. Acta
11, 82 (1965)
94. Hochstraßer, K., Z. physiol. Chem. 349, 1449 (1968)
95. Reubi, F., Nierenerkrankheiten, 2. Auflage (1970)
Verlag Hans Huber, Bern-Stuttgart-Wien
96. Schettler, G., Innere Medizin, 3. Auflage (1972)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
97. Faarvang, H.J., Acta endocr. (Kbh) 31, 117, (1959)
98. Boylan, J.W., P. Deetjen, K. Kramer, Niere und Wasser-
haushalt, in Gauer/Kramer/Jung, Physiologie des Menschen,
Bd. 7, (1970), Verlag Urban & Schwarzenberg,
München-Berlin-Wien
99. Gekle, D., F.v. Bruchhausen u. G. Fuchs, Pflügers
Arch. ges. Physiol. 289, 180 (1966)
100. Pappenheimer, J.R., Klin. Wschr. 33, 362 (1955)
101. Maunsbach, A.B., J. Ultrastruct. Res. 16, 1 (1966)
102. Buchborn, E., Schweiz. med. Wschr. 94, 1273 (1964)
103. Aus einer Vorlesung von Prof. Pichlmaier, gelesen
am 24. 1. 1974 in München
104. Allgöwer, M., Allgemeine und spezielle Chirurgie,
2. Auflage (1973), Springer Verlag, Berlin-Heidel-
berg-New York.
105. Prout, G.R., E.V. Magatolog & D.M. Hume, Surgery
56, 283 (1964)
106. Werner, B., Acta chir. scand. 134, 467 (1968)

107. Moore, T.C., J.K. Chang & D.H. Hume, Surg. Gynec. Obstet. 127, 1023 (1968)
108. Werle, E., R. Busse & A. Schmal, Klin. Wschr. 46, 1315 (1969)
109. Zühlke, V., G. Hermann & P. Faul, Langenbecks. Arch. Chir. 325, 725 (1969)
110. Lemperle, G., E. Müller, W. Michaelis & U. Wieczorek, Langenbecks Arch. Chir. 325, 719 (1969)
111. Atay, Z., H. Zobl, & A. Georgii, Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 293 (1972)
112. Tidow, G., K. Wonigeit, I. Herbst, Z. Atay, Schmitz-Fennerlake., P.O. Sponholz, A.J. Coburg & R. Pichlmeyer Langenbecks Arch. Chir. Suppl. (1974) S. 319
113. Piza, F., P. Brücke, H. Pokieser & W. Zannbauer, Langenbecks Arch. klin. Chir. 322, 547 (1968)
114. Truninger, B., S.M. Rosen, H. Kriek, J.P. Merrill & J.E. Murray, Surg. Forum 16, 254 (1967)
115. Rapaport, F.T., K. Kano & F. Milgrom, J. Clin. Invest. 47, 633 (1968)
116. Zühlke, V., S.D. Deodkar, S. Nakamoto & W.J. Kolff, Transplantation 5, 135 (1967)
117. Hollenber, N.K., A.B. Retik, S.M. Rosen, J.E. Murray, & J.P. Merrill, Transplantation 6, 59 (1968)
118. Kaufman, H.M., R.F. Clark, J.H. Magee, W.S. Rittenbury, C.M. Goldsmith, G.R. Prout & D.M. Hume, Surg. Gynec. Obstet. 119, 25 (1964)
119. Bergström, K., R. Blomstrand, G. Magnusson & B. Werner, Acta chir. scand. 134, 467 (1968)
120. Maher, J.F., Am. J. Med. 56, 275 (1974)
121. Fritz, H., J. Trautschold & E. Werle in Methoden der Enzymat. Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 2. Auflage Bd. I, S. 1221, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1970)
122. Hochstraßer, K., H. Feuth, J. Fall, & B. Kemkes, Klin. Wschr. 52, 1015 (1974)

123. Hochstraßer, K., H. Feuth, B. Kemkes, J. Fall & E. Werle, Klin. Wschr. 52, 1018 (1974)
124. Heimbürger, N., in Fritz, H.,/ Tschesche, H.: Proteinase Inhibitors, S. 14, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, (1974)

Josef Fall

München, den 10. 4. 1975

Lebenslauf

Geboren am 21. März 1950 in Belzheim/Kreis Donau-Ries

Eltern: Josef Fall, Landwirt

Maria Fall, geb. Schneid

Familienstand: ledig

Ausbildungsweg:

1956 - 1961 Volksschule in Belzheim/Kreis Donau-Ries

1961 - 1970 Humanistisches Gymnasium bei St. Stephan
in Augsburg

1970 Beginn des Medizinstudiums an der
Ludwigs-Maximilians-Universität München

Voraussichtlicher Studienabschluß: Frühjahr 1976

